

BIOMONITORIZAÇÃO DE ELEMENTOS NUMA POPULAÇÃO DE CRIANÇAS PORTUGUESAS EM IDADE ESCOLAR: DOS VALORES DE REFERÊNCIA AOS DETERMINANTES

INÊS PEIXOTO OLIVEIRA REBELO

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Nutrição Humana e Metabolismo
na Faculdade de Ciências Médicas | NOVA Medical School da Universidade NOVA de
Lisboa

Julho, 2021

**BIOMONITORIZAÇÃO DE ELEMENTOS NUMA POPULAÇÃO DE
CRIANÇAS PORTUGUESAS EM IDADE ESCOLAR: DOS VALORES DE
REFERÊNCIA AOS DETERMINANTES**

Inês Peixoto Oliveira Rebelo

Orientadores: Professor Doutor Diogo Pestana, Faculdade de Ciências Médicas |

NOVA Medical School da Universidade NOVA de Lisboa

Professora Doutora Diana Teixeira, Faculdade de Ciências Médicas | NOVA Medical

School da Universidade NOVA de Lisboa)

Doutora Virgínia Cruz Fernandes, LAQV REQUIMTE – Instituto Superior de

Engenharia do Porto (ISEP)

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Nutrição Humana e
Metabolismo**

Julho, 2021

AGRADECIMENTOS

Aos meus pilares, pai, mãe e irmã, pelo apoio incondicional durante este percurso e em todas as etapas da minha vida, pela paciência em ouvir todos os meus desabafos, por acreditarem sempre em mim e por todo o amor que me dão. É a eles que devo tudo o que tenho até hoje.

Às minhas meninas de São Miguel, especialmente a Beatriz e a Pilar, que apesar da distância continuaram sempre a apoiar-me e a mostrar-me que a amizade vai muito além da presença física.

À Beatriz, à Catarina e sobretudo à Juliana, que desde a licenciatura estiveram ao meu lado. Amizades de faculdade que levo para toda a minha vida.

Desejo igualmente agradecer a todos os meus colegas do Mestrado em Nutrição Humana e Metabolismo, especialmente ao Filipe Jesus e à Catarina Rodrigues, cujo apoio e amizade estiveram presentes em todo o percurso.

Agradeço também aos coordenadores do mestrado por todos os ensinamentos dados durante este mestrado.

Ao Prof.^o Doutor Diogo Pestana, por ter aceitado ser meu orientador. Obrigada pela sua orientação, apoio e conselhos úteis.

À Prof.^a Doutora Diana Teixeira e Doutora Virgínia Cruz Fernandes, por terem aceitado ser minhas orientadoras. Obrigada pelos ensinamentos ao longo deste ano e pelo apoio sempre que necessário.

E por último, ao meu companheiro de vida que esteve sempre ao meu lado nos momentos de ansiedade, de stress e de alegria. Esteve sempre pronto a ouvir-me e a dar-me forças para continuar. A ti Jorge, obrigada.

ABREVIATURAS

AE- Alteradores endócrinos

BFR - Retratadores de chama bromados

CNPD – Comissão Nacional da proteção de Dados

DGS - Direção-Geral da Saúde

EFSA - *European Food Safety Authority*

EPE – Elemento possivelmente essencial

EPT – Elemento potencialmente tóxico

ES – Elemento essencial

EUA – Estados Unidos da América

FDA - *Food And Drug Administration*

GPx – Enzima glutationa peroxidase

HMB - Biomonitorização Humana

HMB4EU – Iniciativa de Biomonitorização Humana para a Europa

ICP – MS – espectrometria de massa com plasma indutivo acoplado

IMC - Índice de Massa Corporal

IOM - *Institute of Medicine*

IQR – Intervalo Interquartil

LOD – Limite de deteção

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCA – Análise dos componentes principais

PCBs - Bifenilos policlorados

POPs - Poluentes orgânicos persistentes

VR95 – Valores de referência

ABSTRACT

The presence of chemical elements in small amounts in living beings have recognized importance in the physiology and nutrition of humans. According to the World Health Organization, we can classify them as essential elements, probably essential elements and potentially toxic elements. Disturbances in homeostasis, balance and interaction between elements can result in the development of dysfunction and pathologies. The public interest and awareness of the population about environmental health have been increasing due to the disastrous consequences that chronic exposure to contaminants through food, particularly elements with toxic potential, have been revealed to have on health. However, the impacts or levels on the population are not yet fully understood. Biomonitoring makes it possible to determine the levels of various elements, including potentially toxic ones, by measuring them in body fluids and understanding the impact associated with health.

Based on the IoGeneration project cohort, a representative sample of children from the northern region of Portugal was studied in order to explore the levels of several essential and potentially toxic elements in the urine of school-age children, completing the knowledge already produced regarding iodine. In this way, we were able to calculate the elements reference values, as well as assess their determinants, interaction and potential impact on health.

Thus, with this study it was noticed that children from the three regions of the North presented higher values of chemical elements compared to the reference values of international countries and that, among the regions most exposed to the elements, Greater Porto and Entre Douro e Vouga had the higher levels of chemical elements. Furthermore, age is a relevant determinant, as younger children had higher levels of urine detection, while sex did not interfere as much with the levels of elements present in the urine. Patterns were also determined and explored, which allowed us to understand possible interactions between the different elements and the relationship with the characteristics of the children and with food consumption. The region and age, namely younger age, were shown to be important determinants of pattern adherence. Regarding sex, females show low adherence to pattern 2. When analysing the children's diet, it was observed that higher consumption of both milk, yogurt and fish were associated with

higher adherence to pattern 3, comprised by iodine, selenium, arsenic and thallium. In turn, the higher consumption of baby cereals was associated with greater adherence to pattern 2, that include the elements cadmium and molybdenum.

This project could bring great benefits to the health of the population, through knowledge of the levels of these elements in Portugal and their potential role in the state of health and disease. Consequently, it may allow the formulation of new recommendations for the population and the development of food and environmental policies to protect the health of the population, especially children.

Key Words: Endocrine disruptions, biomonitoring, children, elements, metals

RESUMO

Os elementos químicos presentes em pequenas quantidades nos seres vivos têm uma importância reconhecida na fisiologia e nutrição de humanos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) podemos classificá-los em elementos essenciais (EE), elementos provavelmente essenciais (EPE) e elementos potencialmente tóxicos (EPT). Perturbações na homeostase, equilíbrio e interação entre elementos podem resultar no desenvolvimento de disfunção e patologias. Atualmente, o interesse e consciencialização pública sobre a saúde ambiental tem sido cada vez maior devido às consequências nefastas que a exposição crónica a contaminantes, particularmente EPT através da alimentação, têm relevado ter sobre a saúde. Contudo, ainda não estão totalmente esclarecidos quais os impactos, nem os níveis destes elementos na população. A biomonitorização permite determinar os níveis de diversos elementos, nomeadamente os EPT, através da sua medição nos fluidos do organismo e compreender o impacto associado à saúde.

No seguimento do projeto IoGeneration, uma amostra representativa de crianças da região norte de Portugal, foi estudada para explorar os níveis de vários elementos, EE e EPT, na urina de crianças em idade escolar, completando assim o conhecimento já produzido relativamente ao iodo. Dessa forma, foram calculados os seus valores de referência e avaliado os seus determinantes, interação e potencial impacto na saúde.

Assim, com este estudo percebeu-se que as crianças das três regiões do Norte, apresentaram valores de elementos químicos superiores aos valores de referência de países internacionais e que, entre as regiões mais expostas aos elementos, Grande Porto e Entre Douro e Vouga apresentaram os teores mais elevados de elementos químicos. Além disso, a idade é um determinante relevante, pois as crianças mais novas apresentam níveis mais elevados de deteção de urina, enquanto o sexo não interfere tanto nos níveis de elementos presentes na urina. Também foram determinados e explorados padrões que nos permitiram compreender as possíveis interações entre os diferentes elementos e a relação com as características das crianças e com o consumo alimentar. A região e a idade, nomeadamente a idade mais jovem, mostraram-se importantes determinantes da adesão ao padrão. Em relação ao sexo, o sexo feminino apresenta baixa adesão ao padrão 2. Ao analisar a dieta das crianças, observou-se que o maior consumo de leite, iogurte e peixe foi associado à maior adesão ao padrão 3, composto por iodo, selênio, arsênio e

tálio. Por sua vez, o maior consumo de cereais infantis foi associado à maior aderência ao padrão 2, que inclui os elementos cádmio e molibdênio.

Este projeto poderá trazer grandes benefícios para a saúde da população, através do conhecimento dos níveis destes elementos em Portugal e seu potencial papel no estado de saúde e doença. Consequentemente, poderá permitir formular novas recomendações para a população e desenvolvimento de políticas alimentares e ambientais que permitam proteger a saúde da população, especialmente das crianças.

Palavras-chaves: Alteradores endócrinos, biomonitorização, crianças, elementos, metais

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	iii
ABREVIATURAS	v
ABSTRACT	vi
RESUMO	viii
ÍNDICE	x
ÍNDICE DAS TABELAS	xii
INTRODUÇÃO	1
Elementos químicos	2
Elementos essenciais	4
<i>Cobre</i>	4
<i>Iodo</i>	4
<i>Molibdénio</i>	5
<i>Selénio</i>	5
Elementos provavelmente essenciais	6
<i>Cobalto</i>	6
<i>Manganês</i>	6
<i>Níquel</i>	7
Elementos potencialmente tóxicos	7
<i>Chumbo</i>	7
<i>Cádmio</i>	7
<i>Alumínio</i>	8
<i>Arsénio</i>	8
<i>Estanho</i>	9
<i>Tálio</i>	9
<i>Antimónio</i>	10
Exposição humana a contaminantes perigosos	10
Do crescimento da ameaça à biomonitorização humana	11
OBJETIVOS	15
METODOLOGIA	16
Procedimentos previamente realizados no estudo loGeneration	16
<i>Desenho do estudo e participantes</i>	16

<i>Declaração de ética</i>	17
<i>Trabalho de campo</i>	17
<i>Avaliação antropométrica</i>	17
<i>Análise bioquímica</i>	18
<i>Gestão de dados</i>	18
Procedimentos realizados neste estudo	18
<i>Determinação de níveis e valores de referência dos diferentes elementos</i>	18
<i>Avaliação de determinantes dos níveis dos elementos químicos estudados</i>	18
<i>Análise de dados</i>	19
RESULTADOS	20
Caracterização da população	20
Caracterização dos níveis dos elementos e valores de referência	21
Determinantes de exposição	22
<i>Região</i>	22
<i>Sexo</i>	26
<i>Idade</i>	28
Avaliação da adesão dos padrões	32
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	49

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1. Caracterização dos elementos por grupo e suas características	2
Tabela 2. Comparação de valores de referência (RV95) internacionais de elementos determinados na urina, sem ajuste para a creatinina.....	13
Tabela 3. Caracterização da população por região.....	20
Tabela 4. Caracterização dos níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças em idade escolar (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	21
Tabela 5. Caracterização dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	22
Tabela 6. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças da região do Grande Porto (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	23
Tabela 7. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças da região do Tâmega (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	23
Tabela 8. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças da região do Entre Douro e Vouga (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	24
Tabela 9. Comparação entre regiões dos níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas por região estudada mais elevadas a negrito).....	25
Tabela 10. Comparação entre regiões dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas por região estudadas mais elevadas a negrito).....	25
Tabela 11. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do sexo masculino (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	26
Tabela 12. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do sexo feminino (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	27
Tabela 13. Comparação entre sexos dos níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas do sexo mais elevadas a negrito).....	27
Tabela 14. Comparação entre sexos dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas do sexo mais elevadas a negrito).....	28

Tabela 15. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 5 – 6 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	29
Tabela 16. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 7 – 8 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	29
Tabela 17. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 9 – 10 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	30
Tabela 18. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 11 – 12 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).....	30
Tabela 19. Comparação entre grupos etários dos níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas de grupos etários mais elevadas a negrito).....	31
Tabela 20. Comparação entre grupos etários dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas de grupos etários mais elevadas a negrito).....	32
Tabela 21. Cargas fatoriais dos níveis dos elementos ajustados à creatinina identificadas pela análise de componentes principais com rotação <i>varimax</i> (cargas acima de $\pm 0,3$ sombreadas na cor do padrão correspondente).....	33
Tabela 22. Avaliação da adesão aos padrões pelas características e meio envolvente das crianças (valores mais elevados a negrito).....	35
Tabela 23. Avaliação da adesão aos padrões pelos estilos de vida e alimentação das crianças (valores mais elevados a negrito).....	3

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagem das 3 regiões do Norte de Portugal incluídas na análise deste estudo.....	16
---	----

INTRODUÇÃO

A incidência e prevalência de doenças crónicas, nomeadamente doenças metabólicas (obesidade, dislipidemia, diabetes *mellitus*, entre outros), têm vindo a aumentar de forma alarmante [1]. De acordo com os dados de *Global Burden of Disease*, em 2016 foi estimado que 85,9 % da população portuguesa apresentava doenças crónicas não transmissíveis [2]. Este aumento deve-se a diferentes fatores modificáveis, como os hábitos alimentares inadequados, o sedentarismo, a exposição a compostos químicos e ambientais, entre outros. Em particular, este último facto é de especial importância, pois a maioria das principais doenças crónicas resulta provavelmente da combinação de exposições externas “ambientais” (por exemplo, alimentação e químicos) e a genética humana, porém os seus efeitos ainda são pouco compreendidos [3].

Na população vamos encontrar vários estádios da vida, isto é, dentro do grupo populacional vamos ter subgrupos, como por exemplo as crianças, mais vulneráveis à exposição de elementos potencialmente tóxicos (EPT), contaminantes químicos e ainda défices nutricionais que levam a um maior impacto na saúde. A importância da alimentação e os cuidados a ter iniciam-se desde a vida *in utero* e prolongam-se durante a fase de desenvolvimento das crianças. Ao longo dos anos têm-se verificado que o estado nutricional deste grupo etário tem vindo a piorar, com o aumento do número de casos de obesidade associado e a um consumo excessivo de produtos processados, ricos em açúcar, em gordura e sal [4]. Estão também associados outros problemas, que podem causar desequilíbrio de micronutrientes essenciais que podem também estar associados ao surgimento e/ou desenvolvimento de doenças, como atraso no crescimento, alteração no comportamento cognitivo, obesidade, diabetes *mellitus*, dislipidemia, entre outros [5,6].

Por outro lado, a exposição a contaminantes ambientais através do meio ambiente, ar, água, solo, leva a um aumento de EPT nas crianças, o que poderá ter consequências nefastas na saúde da população [7]. Este facto ganha mais relevância porque a fisiologia do organismo das crianças ainda não está completamente desenvolvida e o mecanismo de eliminação é imaturo. Assim, sendo um período crítico e de extrema vulnerabilidade, uma alimentação com elevada qualidade nutricional torna-se mais importante do que em termos de necessidades energéticas [8]. Além disso, o facto de consumirem mais alimentos por unidade de peso corporal e mais água, pelos aspetos físicos (área de superfície alta: relação de volume, crescimento crítico e estágios de desenvolvimento), e pelo comportamento (contato direto com o solo e outras superfícies, tendência a colocar tudo na boca, etc.) fazem com que a sua exposição aos elementos seja mais elevada [9,10,11].

Elementos químicos

Segundo a OMS podemos classificar os elementos químicos em elementos essenciais (EE), elementos provavelmente essenciais (EPE) e EPT (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos elementos por grupo e suas características.

Tipo	Nome	Fontes da alimentação ou outras fontes	Funções biológicas	Efeitos por excesso de exposição
Essenciais (EE)	Cobre	Marisco, carnes, nozes e feijão. Utensílios de cozinha, moedas, acessórios e canalização, materiais para produção industrial	Cofator de enzimas	Doença de Wilson
	Iodo	Pescado, crustáceos, algas, leite e seus derivados, ovos e sal iodado	Importante para a regulação das hormonas tiroideias	Hipertireoidismo induzido pelo iodo, doença tiroidea autoimune
	Molibdénio	Leite e seus derivados, hortícolas, fígado, rim, cereais integrais e nozes. Produção de aço, vedações de vidro com metal de ligas não ferrosas e pigmentos	Atividade de várias enzimas (complexo xantina oxidase/desidrogenase, sulfito oxidase e aldeído oxidase)	Hiperuricemia e dores nas articulações
	Selénio	Carnes, frutos gordos, vísceras, cereais. Uso difundido em produtos industriais e de consumo	Promove a diminuição da toxicidade de elementos potencialmente tóxicos, através da formação de selenetos e da promoção de ligações entre os metais e proteínas. Influencia sobre as hormonas tiroideias	Apesar de raro, as intoxicações mais graves são chamadas de <i>blind staggers</i> e afetam o sistema nervoso central. As intoxicações moderadas são chamadas doença alcalina
Provavelmente essenciais (EPE)	Cobalto	Fígado, carne, hortícolas, couve, levedura de cerveja. Processos industriais	Importante para a produção de vitamina B12, necessário ao metabolismo dos ácidos nucleicos e aminoácidos e importante para o ciclo de Krebs	Danos no músculo cardíaco e no pâncreas, atrofia e degeneração de neurónios e ainda alterações nos hepatócitos
	Manganês	Água, alimentos (hortícolas, leguminosas, frutas, nozes e chá que são ricos em manganês). Produção de aço, pilhas secas, fertilizantes, tintas (agente de imagens médicas e cosméticos)	Função enzimática, metabolismo lipídico e dos hidratos de carbono	Doença de Parkinson
	Níquel	Hortícolas, chocolate, especiarias, nozes, leguminosas, produtos de pastelaria. Uso generalizado em produtos industriais e de consumo	Faz parte da composição de algumas metaloenzimas e desidrogenases	Alteração nos sistemas reprodutor, gastrointestinal, neurológico e pulmonar

Potencialmente tóxicos (EPT)	Chumbo	Água, produtos de origem animal, e hortícolas (depende do solo em que se encontra). Produtos da indústria de materiais de construção, baterias usadas, gasolina	-	Atraso do crescimento, afeta o desenvolvimento neuronal, aparecimento de cancro, podendo ainda causar convulsões, coma e mesmo morte
	Cádmio	Cereais integrais, hortícolas, soja, amendoins. Maior quantidade na produção de baterias, de ligas e de tintas e fumo do tabaco	-	Aparecimento de cancro pulmonar, renal, próstata, fígado. Disfunção tubular renal e distúrbio no metabolismo do cálcio
	Alumínio	Hortícolas, fruta, cereais integrais e coco. Presente nas embalagens alimentares (plástico, cerâmica, metal e papel), cosméticos e produtos de higiene pessoal	-	Frequente em pacientes com doença renal ou em trabalhadores com a exposição a este elemento, levando ao aparecimento da fibrose pulmonar
	Arsénio	Pescado, arroz e produtos à base de arroz (fonte de arsénico inorgânico) e alguns sumos embalados para crianças. Mineração e fundição de metais não ferrosos, presente em pesticidas e herbicidas, produtos para preservação de madeira, produtos para combustão de carvão e para a incineração de resíduos	Envolvimento nas porfirinas, inibe o ciclo da ureia	Aparecimento de cancro de pele e lesões de pele, cancro da bexiga e dos pulmões e antagonista das hormonas tiroideias
	Estanho	Contaminação dos alimentos por contacto com embalagens de metal	-	Gastroenterite agudas, enquanto a inalação crónica poderá levar a pneumoconiose benigna não fibrótica
	Tálio	Alimentação (hortícolas) pela contaminação dos solos. Processos industriais, aplicações específicas em imagens médicas (cardíacas, galvanoplastia)	-	Efeitos tóxicos poderão ser devido às interações com as funções biológicas do potássio. Perturbação da função mitocondrial que leva ao aumento do stresse oxidativo intracelular e à apoptose
	Antimónio	Contaminação dos alimentos através da água contaminada. Aplicações industriais, retardantes de chamadas, aditivos de pigmentos de tinta, vidro e produtos cerâmicos, produtos farmacêuticos	-	Rinite, faringite e a longo prazo bronquite e doença pulmonar obstrutiva. Problemas cardiovasculares, hipertensão, erupções cutâneas e cancro

Elementos essenciais

Cobre

O cobre é um mineral essencial, envolvido nas reações de oxidação-redução. A sua recomendação diária de ingestão é de 0,2 mg/Kg/dia para crianças acima dos 5 anos e o valor máximo de ingestão é de 10 mg/dia [12,13]. A sua biodisponibilidade irá depender da interferência de vários constituintes da alimentação. As principais fontes alimentares são os hortícolas (couves), cogumelos, leguminosas, cereais integrais, cevada, nozes, sementes, leite e derivados, fígado, carne, crustáceos e chocolate [14], porém também poderá ocorrer exposição por utensílios de cozinha, moedas, acessórios, canalização e materiais para produção industrial. A sua absorção a nível intestinal irá ser reduzida pela presença de zinco, ferro, molibdénio e frutose [12]. O seu excesso leva ao aparecimento da doença de Wilson que está associada à chamada reação de “fase aguda” de vários estados patológicos, sendo uma doença hepática e neurológica, autossómica recessiva e que é definida pela acumulação de cobre no fígado devido à diminuição da sua excreção na biliar [15].

Iodo

O iodo é um micronutriente essencial para a síntese e funções das hormonas tiroideias, sendo determinante para o metabolismo celular, regulação da taxa metabólica basal e temperatura corporal e para o desenvolvimento do sistema nervoso central [16]. Por isso, é essencial a adequação dos seus níveis no organismo, sendo que em crianças com idade a partir dos 4 anos a ingestão diária recomendada é de 90 a 150 µg/dia e os níveis máximos de ingestão tolerável de 250 – 450 µg/dia nas crianças [17]. A sua excreção é realizada maioritariamente pela urina, sendo os seus níveis urinários (iodúria) o biomarcador da ingestão de iodo, com nível de adequação de 100 a 200 µg/L. As principais fontes alimentares de iodo incluem algas, marisco, cereais integrais, ovos e leite e seus derivados. Contudo, a presença de iodo neste último grupo alimentar irá variar de acordo com o tipo da alimentação a que o animal é sujeito [12,17,16].

O défice de iodo é frequente entre a população, principalmente nas crianças, uma vez que a sua alimentação é desequilibrada em termos nutricionais e muitas vezes não há a ingestão de pescado nas quantidades adequadas, nem de leite e seus derivados [17]. A inadequação nutricional deste micronutriente poderá levar a consequências mais graves para a saúde da população como o surgimento de bócio, de cretinismo e atraso no crescimento, enquanto que os níveis de inadequação menos severos podem ter efeitos no desenvolvimento global da criança e no QI [17,16]. Para além disso, a ingestão de alimentos bocigénicos, como a soja, poderá também interferir com a absorção de iodo [16]. Porém, é possível intervir e criar estratégias de modo a promover a sua adequação nutricional, nomeadamente a suplementação de iodo (iodeto de potássio) ou através da promoção do consumo de alimentos fortificados em iodeto ou iodato de potássio, como é o caso do sal iodado [17,16]. Apesar de ser raro, também é possível a ocorrência de inadequação nutricional por excesso de iodo, que pode levar ao hipertiroidismo induzido pelo excesso da ingestão iodo e doença tiroidea autoimune [16].

Molibdénio

O molibdénio é um metal que está envolvido na atividade enzimática (nomeadamente no complexo xantina oxidase/desidrogenase, sulfito oxidase) e funciona como cofator enzimático, tendo um papel importante na desintoxicação do organismo [18]. Segundo a *European Food Safety Authority* (EFSA) os níveis de consumo diário de molibdénio não estão estabelecidos para crianças. Contudo, tendo por base os valores para os adultos e usando escalas isométricas e referências do peso corporal, foi possível extrapolar o valor adequado de ingestão de 65 µg/dia para o grupo etário das crianças [19]. Outros estudos indicam que o seu valor mínimo de consumo é de 25 µg/dia [15]. As principais fontes alimentares são o leite e seus derivados, hortícolas, fígado, rim, cereais integrais e nozes. A sua excreção é feita pela urina, sendo 1 % excretado pela biliar. Dependendo da quantidade ingerida, a absorção do molibdénio poderá ser de 59-95 % no trato gastrointestinal. Caso esta absorção seja demasiado elevada poderá levar à hiperuricemia, sendo observado nas doenças cardiovasculares, na síndrome metabólica e nas complicações de diabetes *mellitus*. Este efeito pode ser controlado e revertido através da suplementação de cobre, porém a exposição excessiva a este elemento também irá contribuir para a diminuição da absorção intestinal do cobre e do sulfato, prejudicando a sulfatação de produtos químicos [12,15].

Selénio

O selénio é um mineral essencial para o bom funcionamento do organismo, com uma função antioxidante como cofator da enzima glutathione peroxidase (GPx), mas também como regulador do sistema imunitário e da função tiroideia. São fontes alimentares deste elemento o pescado, carne, leite e derivados, cereais integrais e castanha do maranhão e a sua excreção é feita pela urina [20]. Apesar da sua excreção ser feita pela urina, não existem indicadores específicos de selénio, sendo que o valor extrapolado de ingestão adequada é de 15 µg/dia [21]. A partir de 5 mg/dia torna-se tóxico, no entanto, ainda não existem estudos que consigam clarificar o mecanismo [22].

A inadequação nutricional de selénio (deficiência) está associada à diminuição da resposta imune e consequentemente ao aumento do risco de doenças autoimunes e redução na defesa antiviral. São fatores de risco à deficiência de selénio a exposição ao tabaco, a idade, a inflamação e certos tipos de cancro [22]. A doença de Kashin – Beack, uma osteoartropatia, ocorre em países onde existe défice nutricional de selénio (abaixo de 20 µg/dia) e de iodo, diminuindo a capacidade de mitigar a exposição elevada a micotoxinas e ácidos fúlvicos que ocorre nestes locais [12,22]. Além disso, estudos demonstram que o seu défice está associado a uma acumulação no organismo de metais tóxicos e metalóides como cádmio, mercúrio e arsénio pela formação de selenetos e da promoção de ligações entre os metais e proteínas [12,15,18].

Elementos provavelmente essenciais

Cobalto

O cobalto é um cofator da produção de vitamina B12, necessário ao metabolismo dos ácidos nucleicos e aminoácidos e importante para o ciclo de Krebs, contudo o seu excesso induz efeitos adversos à saúde, como danos no músculo cardíaco e no pâncreas, mais especificamente nos ilhéus de Langerhans [15]. Geralmente não é extraído sozinho e tende a ser produzido principalmente como um subproduto da mineração de cobre e níquel. As principais fontes alimentares são o fígado, carne, hortícolas, levedura de cerveja, sendo que a ingestão diária deverá ser de 5-40 µg/dia para adultos. Os níveis normais da presença deste elemento na urina para os indivíduos é de 2,0 µg/L [12]. A sua absorção irá depender do tipo de compostos em que o cobalto está inserido, sendo a sua excreção realizada através da urina (80 %) e fezes (15 %). O défice dos níveis deste elemento irá levar à anemia, à perda de peso e ao atraso do crescimento nas crianças. A exposição excessiva leva a danos no músculo cardíaco e no pâncreas, atrofia e degeneração de neurónios e ainda alteração nos hepatócitos [12]. Segunda EFSA, o consumo de cobalto para a população adulta não deverá exceder os 14 µg/dia [23], não existindo nenhum dado para as crianças.

Manganês

O manganês é o terceiro elemento mais abundante no corpo humano, sendo essencial para muitos processos metabólicos e celulares, nomeadamente cofator para reações enzimáticas (cinases, transferases e descarboxilases) e para funções estruturais [12]. Tem papel de ativador de várias enzimas, estando envolvido no metabolismo da glicose e lipídico, na síntese de proteínas, vitamina C e B, que têm um papel fundamental na regulação endócrina, participa na formação tecidular, e é importante para o sistema reprodutor e função imunitária. O manganês é absorvido no trato gastrointestinal e as principais fontes alimentares são os hortícolas, leguminosas, frutas, nozes e chá, mas também a água. Outras fontes de exposição podem ocorrer de forma involuntária uma vez que este elemento está associado à produção de aço, pilhas secas, fertilizantes, tintas (agente de contraste em técnicas de diagnóstico por imagem médica e cosméticos). Segunda EFSA, a ingestão adequada para crianças entre os 1 – 3 anos é de 0,5 mg/dia e para adolescentes 3 mg/dia [24], enquanto o *Institute of Medicine's Dietary Reference Intakes*, indica 1,5 e 1,9 mg/dia [25]. O seu défice é raro, contudo, quando acontece, está associado a dermatites e dislipidemia. Os níveis urinários deste elemento não são um bom biomarcador do estado nutricional, uma vez que este elemento apresenta uma semi-vida curta e a via principal de excreção é a biliar [12]. A toxicidade deste mineral está associada a efeitos neurotóxicos (11 mg/dia), afetando o neuro-desenvolvimento das crianças e contribuindo para o desenvolvimento da doença de *Parkinson*. O manganês apresenta interação com o ferro, afetando a sua toxicocinética, uma vez que os dois elementos competem pela mesma proteína de ligação (transferrina) e pelo mesmo transportador de sistemas (*Divalent metal transport 1*) [12,26].

Níquel

O níquel é 10 % absorvido no trato gastrointestinal, através dos canais de cálcio e ferro [12], sendo a sua exposição feita pela ingestão de alimentos como hortícolas, chocolate, especiarias, nozes, doces, e de água. Segundo *Food And Drug Administration* (FDA) o consumo de níquel pelas crianças é de 69 a 90 µg/dia, sendo o valor máximo tolerável 0,3 a 0,6 mg/dia, segundo o *Institute of Medicine* (IOM) [26]. Outras exposições importantes podem ocorrer através da inalação do ar e do fumo de tabaco. Pode ainda ser encontrado em aços inoxidáveis, baterias, tintas, catalisadores e cerâmicas. Ainda não é clara a sua função fisiológica, mas alguns estudos evidenciam ser cofator da ativação de metaloenzimas e desidrogenases que estão relacionadas com o metabolismo da glicose. O seu défice não é uma preocupação, enquanto o excesso, nomeadamente através da ingestão por via alimentar superior a 250 µg/dia, poderá levar à falência multiorgânica nomeadamente renal, hepática e do baço, alterações no sistema reprodutor, gastrointestinal, neurológico e pulmonar, e ao aparecimento de cancro nasal [12,15,18].

Elementos potencialmente tóxicos

Chumbo

O chumbo é o mineral mais presente do meio ambiente, podendo-se encontrar livre decorrente de atividades de mineração, fundição, fábricas e reciclagem [27]. Para além disso encontra-se ainda na gasolina e baterias usadas, em produtos industriais, produtos da indústria de construção, como tintas, vitrais e cristais cerâmicos, nas joias, nos brinquedos e em alguns cosméticos e medicamentos tradicionais. Este mineral pode ser encontrado em duas formas, orgânico e inorgânico, e a sua absorção poderá ser influenciada pela idade e pelo estado fisiológico do indivíduo [28]. O primeiro é absorvido através do consumo de água e de alimentos, pelo contato com a pele e por inalação, enquanto o segundo não é absorvido pela pele. Estudos de avaliação do limite tolerável de exposição indicam que não deverá ultrapassar os 25 µg/Kg/semana [29], uma vez que a exposição elevada ao chumbo tem consequências negativas e irreversíveis. Na criança leva ao atraso do crescimento, afeta o desenvolvimento neuronal (dificuldades na aprendizagem e redução no QI), aumenta o risco de cancro, podendo ainda causar convulsões, coma e mesmo morte. A toxicidade do chumbo deve-se à sua interação com processos bioquímicos, concretamente a capacidade de este inibir as ações do cálcio e interagir com as proteínas [28]. Por outro lado, níveis baixos de zinco, manganês, ferro e cálcio na alimentação leva ao aumento da absorção de chumbo, especialmente em crianças [12].

Cádmio

Este metal é considerado potencialmente tóxico para a população, contudo encontra-se em níveis baixos no meio ambiente, sendo usado na produção de baterias, ligas e tintas. Não tem capacidade de ser absorvido por via cutânea e por isso, a sua exposição ocorre através da ingestão alimentar e da inalação do fumo do tabaco. A alimentação é o maior meio de exposição a este metal, sendo as principais fontes os cereais integrais,

os hortícolas, a soja e os amendoins. A inadequação na ingestão de cálcio, ferro e uma alimentação pobre em fontes proteicas, podem influenciar a absorção de cádmio, aumentando a sua concentração plasmática no organismo [11]. Contudo, também existe uma correlação entre este metal e o ferro, uma vez que a sua absorção no intestino está inversamente relacionada com os níveis de ferritina no sangue [30], sendo que as mulheres apresentam níveis de cádmio mais elevado do que os homens, uma vez que os níveis de ferro são mais baixos no sexo feminino [11]. Um estudo feito nos Estados Unidos da América (EUA), refere níveis elevados de cádmio presentes na urina (2 mg/g ajustado à creatinina), sendo que a recomendação dos níveis máximos de exposição é de 0,4 mg/Kg/dia [28,31]. Enquanto pela agência de biomonitorização alemã 0,5 a 2 µg/L ajustado à creatinina e pela Biomonitorização Humana para a Europa (HBM4EU) 0,5 µg/L [32]. A toxicidade deste elemento está associada ao aparecimento de cancro pulmonar, renal, da próstata, do fígado, à disfunção do tubular renal e a alterações no metabolismo do cálcio [12].

Alumínio

O alumínio é o terceiro metal mais abundante no planeta, tendo a capacidade de se ligar a outros elementos como o sódio e flúor. A sua biodisponibilidade irá depender da matriz alimentar, nomeadamente a presença de ácidos cítricos, sendo que a sua absorção a nível intestinal irá depender do pH e da presença de complexos de ligação, particularmente ácidos carboxílicos. A principal forma de excreção é através da urina. A exposição a este metal pode ocorrer por inalação, através da ingestão da alimentação e da água, mas também pela via dérmica e consumo de fármacos. Os principais alimentos em que é possível encontrar o alumínio são as hortícolas, fruta, cereais e o coco. Porém, também está presente nas embalagens alimentares (plástico, cerâmica, metal e papel), cosméticos e produtos de higiene pessoal. O alumínio poderá interferir na absorção de outros elementos no trato gastrointestinal, nomeadamente a inibir a absorção do flúor, cálcio e ferro. Por outro lado, o ácido salicílico pode afetar a absorção do alumínio. A sua toxicidade é rara, sendo mais frequente em indivíduos com doença renal, ou em trabalhadores com a exposição a este elemento levando ao aparecimento da fibrose pulmonar [11]. Por este elemento encontrar-se presente em embalagens alimentares, a EFSA estabilizou o valor de ingestão semanal tolerável de 2 mg/Kg [33].

Arsénio

O arsénio é um metaloide [28] visto que apresenta características tanto dos metais como dos não-metais [34], estando amplamente distribuído no meio ambiente. Pode ser detetado nas rochas, solo, sedimento, água, alimentos como pescado, arroz e produtos à base de arroz (fonte de arsénio inorgânico) e alguns sumos embalados para crianças [35]. Encontra-se sob a forma orgânica e inorgânica, em que o primeiro é menos tóxico e ambos são excretados na urina. O arsénio apresenta várias características que influenciam a sua mobilidade, solubilidade, distribuição no organismo e toxicidade, nomeadamente as suas diferentes espécies químicas, estado de oxidação e condições de oxidação-redução. Já a sua toxicidade, à semelhança de outros xenobióticos, irá depender da dose de exposição, da frequência e duração, da espécie biológica, da idade, do

género, da genética e fatores nutricionais, uma vez que quanto menor concentração de selênio, maior a toxicidade de arsénio no organismo [15,34].

As principais fontes de exposição a este elemento incluem a mineração e a fundição de metais não ferrosos, o uso de pesticidas e herbicidas, a preservação de madeira, a combustão de carvão e a incineração de resíduos [36]. Para além disso, é o maior contaminante presente na água utilizada para higienização de alimentos e rega, nos processos industriais. A sua exposição ocorre através do consumo de alimentos, inalação e contacto pela pele [28], sendo que não deverá exceder o limite de toxicidade de 50 µg/L de arsénio total, considerando os valores de excreção urinária [10]. No entanto, alguns estudos mostram que o arsénio é detetado na água para consumo em níveis entre 4 e 20 vezes superiores ao do valor de referência de 10 µg/L recomendado pela OMS [9]. Quanto mais longa a exposição do organismo ao arsénio inorgânico, maior a sua toxicidade, levando consequentemente ao aparecimento de cancro de pele e lesões de pele, cancro da bexiga e dos pulmões [37]. Uma das principais interações do arsénio é com o ferro, desencadeando uma reação que leva à sua precipitação formando o hidróxido de ferro. Caso ocorra nos solos, este fica acumulado nas raízes das plantas, facilitando a captura de arsénio do solo para os alimentos [34]. Nos alimentos é possível encontrar este elemento nos peixes, sendo que os valores variam entre 0,002 e os 90 µg/Kg [38].

Estanho

O estanho é o principal metal usado na indústria alimentar nos enlatados, sendo essa a principal fonte de exposição por via alimentar [39]. Enquanto a sua forma inorgânica é pouco absorvida pelo organismo, a sua forma orgânica é mais tóxica. A exposição ocorre através do trato gastrointestinal, mas também por inalação e por contacto da pele, sendo excretado pelas fezes. A ingestão de alimentos contaminados com este elemento poderá causar gastroenterite agudas, enquanto a inalação crónica poderá levar a pneumoconiose benigna não fibrótica [11]. Segundo EFSA, não existem estudos suficientes que indicam o valor máximo de ingestão tolerável, contudo, foi estabelecido um limite de 200 e 100 mg/Kg, presente nas embalagens alimentares de alimentos e bebidas, respetivamente [40].

Tálio

O tálio é um dos elementos mais tóxicos, sendo absorvido através da pele e do trato gastrointestinal [11]. As principais fontes de exposição decorrem da sua utilização em processos industriais, aplicações específicas em imagens médicas (cardíacas, galvanoplastia) e alimentação (hortícolas), pela contaminação dos solos [41]. Os seus efeitos tóxicos poderão ser devido às interações com as funções biológicas do potássio. Uma das interferências deste elemento é a perturbação da função mitocondrial que leva ao aumento do stresse oxidativo intracelular e à apoptose. Este elemento torna-se tóxico aquando da exposição a doses entre 10 a 15 mg/Kg/dia, causando gastroenterite, polineuropatia, alopecia e entre outros [11,32].

Antimónio

O antimónio é um metaloide que pertence ao mesmo grupo da tabela periódica do arsénio, e é utilizado para a produção industrial de ligas, retardantes de chamadas, cerâmica, vidro e aditivos em pigmentos de tinta e produtos farmacêuticos. A exposição a estas fontes é uma das principais vias de contaminação, assim como por contaminação da água e alimentos. A exposição a este metaloide afeta negativamente o metabolismo dos indivíduos. Por inalação poderá levar ao aparecimento de rinite, faringite e a longo prazo bronquite e doença pulmonar obstrutiva. Para além disso, poderá levar a problemas cardiovasculares, hipertensão, erupções cutâneas e ainda cancro [11].

Exposição humana a contaminantes perigosos

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que compostos químicos presentes no ambiente, como metais pesados, poluentes orgânicos persistentes (POPs), dioxinas, bifenilos policlorados (PCBs), derivados do plástico como bisfenol A, retardadores de chama bromados (BFRs), entre outros, parecem estar associados com doenças endócrino-metabólicas de etiologia complexa. De facto, devido aos seus efeitos de alternadores endócrinos (AE), é cada vez mais claro a sua relação com o desenvolvimento de diabetes *mellitus*, obesidade, infertilidade, diferentes tipos de cancro e doenças neurológicas [2,42]. Em 2012, a OMS alertou para o facto de «o risco de doença pela exposição a químicos AEs poder estar a ser significativamente subestimado», sendo que a falta de regulamentação eficaz sobre estes compostos poderá ter um custo social elevado [7].

Atualmente, estamos a assistir a um aumento do interesse público e conscientização sobre a saúde ambiental, porém é impossível estarmos protegidos desta exposição crónica, particularmente através da alimentação, uma das principais fontes de exposição externa [43]. De facto, o alimento é muito mais do que uma matriz de nutrientes, sendo também uma importante fonte de compostos com potencial tóxico [3].

No entanto, a população está cada vez mais exposta a produtos químicos que apresentam consequências negativas para a saúde. Devido às suas características, algumas substâncias tóxicas, como no caso dos metais pesados aos quais o indivíduo está exposto através da inalação, ingestão e absorção [44], são acumuladas no meio ambiente e no organismo [45]. Estudos demonstram que os indivíduos europeus estão expostos a inúmeros produtos químicos que são produzidos industrialmente ou que ocorrem naturalmente no ambiente [46,47].

Como referido anteriormente, existem subgrupos populacionais que são mais vulneráveis do que outros, como o caso das crianças e mulheres grávidas [48]. A gravidez é uma fase do ciclo de vida da mulher em que necessita de cuidados adicionais, uma vez que todas as etapas do desenvolvimento fetal podem ser alvo de perturbações devido à exposição a contaminantes químicos através do meio ambiente, alimentação, cosméticos, produtos de higiene pessoal, entre outros. Estudos recentes demonstram que existe uma associação entre a exposição *in utero* a metais pesados e AEs durante a gravidez e défices cognitivos em crianças [49].

Assim, é necessário intervir para a redução da exposição a compostos tóxicos não só na vida *in utero*, mas também durante a fase de desenvolvimento das crianças. Para além dos seus mecanismos de eliminação de contaminantes serem ainda imaturos, esta população vulnerável consome também mais alimentos e água por unidade de peso corporal. Adicionalmente, existem igualmente aspetos físicos e comportamentais que acentuam a vulnerabilidade (contato direto com o solo e outras superfícies, tendência a colocar tudo na boca, etc.) [9,10,11].

Existem poucos estudos sobre o impacto dos compostos químicos, concretamente de metais pesados, na saúde das crianças. Davis e colaboradores [50], mostraram que existe uma relação negativa entre a exposição destes e o desenvolvimento cognitivo e o comportamento socio-emocional das crianças, com o desenvolvimento de problemas de atenção, comportamentos agressivos e antissociais, assim como irritabilidade e impulsividade [50]. Em outros estudos é possível observar em 3 % dos indivíduos uma relação dos metais pesados com perturbações do desenvolvimento cognitivo, como é o caso do autismo, alterações de défice de atenção, *Alzheimer* e doença de *Parkinson*, sendo que em 25 % dos indivíduos era devido à interação entre os riscos ambientais e predisposição genética individual [51,52]. Por outro lado, a absorção de EPT, como chumbo e cádmio, pode levar à alteração de processos metabólicos, relacionando-se com a obesidade [42,53].

Do crescimento da ameaça à biomonitorização humana

Pela crescente necessidade de aquisição e desenvolvimento de novos materiais tecnológicos, de automóveis, de materiais de construção, entre outros, nos últimos anos tem-se assistido a um maior desenvolvimento industrial e implementação de incineradoras [27,54]. Este facto, tem contribuído para uma maior emissão de produtos químicos e consequentemente para o aumento da poluição do ar, solos e águas, levando a um impacto negativo na saúde da população, muitas das vezes exacerbado pela capacidade de bioacumulação na cadeia alimentar e no organismo, como referido anteriormente [18,54].

No que respeita aos metais pesados (cádmio, chumbo, níquel) e metaloides (antimónio, arsénio), e outros metais e micronutrientes (alumínio, cobalto, cobre, estanho, manganês, molibdénio, selénio, iodo e tálio), para além de se encontrarem presentes na alimentação [47], também poderão ser encontrados na água potável, nos solos, no ar e nos locais de trabalho (exposição ocupacional) [18]. Segundo Sanders e colaboradores [55], os elementos podem interagir e causar efeitos sinérgicos ou antagónicos no desenvolvimento neuronal, um dos principais efeitos da exposição [55]. Porém, ainda são necessários mais estudos de forma a compreender o impacto total destes contaminantes na saúde da população, nomeadamente em crianças.

Em 1960 a biomonitorização de contaminantes químicos foi originalmente definida como um processo "sistemático de medição padronizada de uma substância ou dos seus metabolitos em fluidos corporais

(incluindo sangue e urina) de indivíduos expostos a estes contaminantes” [56]. Em 1980 foi desenvolvido um sistema contínuo ou de atividade repetitiva para analisar todos os contaminantes com o objetivo de determinar a exposição e risco para a saúde, permitindo comparar com valores de referência e se necessário levar à criação de ações corretivas [56]. Assim, a Biomonitorização Humana (HMB) é um processo de medição, em amostras biológicas humanas (sangue, urina, suor, sêmen, tecido adiposo, cabelo, unhas, entre outros), de substâncias químicas e dos seus metabolitos ou marcadores de efeito sobre a saúde, de forma a proteger a população da exposição e permitir identificar quais os grupos populacionais com maior risco [57]. Os níveis dos elementos químicos no sangue, urina ou suor podem ser usados como indicadores de exposição não só do ar, água, alimentação, solo, lixo doméstico, como também o ambiente, podendo resultar de uma exposição multifatorial [58,59].

No entanto, existem limitações na biomonitorização por falta de padronização de métodos, validade de biomarcadores disponíveis e de integração e interpretação de dados [60,61], pois muitas vezes são medidos metabolitos específicos, e não os compostos originais, que não refletem necessariamente as concentrações em todos os órgãos alvo [62]. Além disso, existem fatores que influenciam a presença das substâncias, [56] nomeadamente fatores biológicos (individuais), tais como os fatores genéticos (como polimorfismos), o sexo e a idade, a capacidade de modular a toxicocinética (metabolismo e eliminação das substâncias perigosas (fase I e fase II, fase III)), o stresse, o tabagismo e o abuso de álcool, assim como o estado nutricional e a saúde da população. Adicionalmente, fatores ambientais, como o clima, podem também ser parâmetros influenciadores [56].

Devido ao impacto dos AEs na saúde da população, a União Europeia criou um programa - Iniciativa de Biomonitorização Humana para a Europa (HBM4EU) - que pretende padronizar a determinação e avaliação da exposição humana a substâncias químicas na Europa, nomeadamente através da determinação de valores de referência, de forma a perceber a associação entre a exposição e o impacto na saúde e consequentemente reduzir os níveis de exposição. Este programa tem a participação de vários países como Portugal, Bélgica, França, Alemanha, Espanha, Itália, República Checa, Eslovénia e em mais 22 países da Europa [60,63]. Os valores de referência (VR95) não são derivados a partir de dados de saúde ou toxicológicos, mas sim dos valores basais de um contaminante em um grupo populacional de referência. Não têm relação direta com limites biológicos de exposição e efeitos ou riscos para a saúde, mas permitem comparar os níveis basais da população com outras regiões ou entre diferentes pontos no tempo, uma vez que devem ser revistos periodicamente [64,65,66]. A Comissão de Biomonitorização Humana da Alemanha definiu o VR95 como “o 95º percentil dos níveis medidos de concentração de poluentes na matriz de uma população de referência. Ao criá-lo, ele é arredondado dentro do intervalo de confiança de 95 %” [65]. Na **tabela 2** estão elencados os VR95 internacionais de elementos determinados na urina.

Tabela 2. Comparação de valores de referência (VR95) internacionais de elementos determinados na urina, sem ajuste para a creatinina [64,65,67].

Elemento <i>País</i>	Período do estudo	Grupo etário (anos)	N	Valor de referência (P95) - µg/L
Alumínio	-	-	-	-
Antimônio <i>Alemanha</i> <i>Bélgica</i>	2003 – 2006 2010 – 2011	3 – 14 >18	1729 1001	0,3 0,2
Arsénio total <i>Alemanha: GerES IV</i> <i>Alemanha: GerES III</i> <i>Bélgica</i> <i>Coreia: KorSEP III</i> <i>Kinshasa</i> <i>U.S. – NHANES</i>	2003 – 2006 1997 – 1999 2010 – 2011 2008 2015	3 – 14 18-69 >18 ≥20 6 - 14 6 - 11	1487 3924 1001 1814 125	15,0 15,0 48,8 106,1 130,3 37,7
Cádmio <i>República Checa: projeto HBM</i> <i>Alemanha: GerES IV</i> <i>Alemanha: GerES III</i> <i>Bélgica</i> <i>Coreia: KorSEP III</i> <i>Espanha: BIOAMBIENT.ES</i> <i>Kinshasa</i> <i>U.S. – NHANES</i> <i>U.K.</i>	2005 – 2009 2003 – 2006 1997 – 1999 2010 – 2011 2008 2009 2015 2013 -	8 – 10 3 – 14 18 – 69 > 18 20 18 – 65 6 – 14 6 – 11 >18	723 - 1667 3128 620 4088 691 125 400	1,0 0,2 0,8 0,7 3,1 0,7 0,8 0,2 0,9
Chumbo <i>Bélgica</i> <i>Canadá</i> <i>Kinshasa</i> <i>U.S. – NHANES</i>	2010 – 2011 - 2015	>18 Todas as idades 6 – 14 6 - 11	1001 - 125	2,8 1,9 28,8 37,7
Cobalto <i>França</i>	-	Adultos	-	1,4
Cobre <i>Bélgica</i> <i>Canadá</i>	2010 – 2011	>18 Todas as idades	1001	19,6 28,0
Estanho	-	-	-	-
Manganês <i>Canadá</i>		Todas as idades		0,4
Molibdénio <i>Bélgica</i>	2010 – 2011	>18	1001	116,0

<u>Canadá</u>		Todas as idades		170,0
Níquel				
<u>Alemanha GerES IV</u>	2003 – 2006	3 – 14	1567	4,5
<u>Alemanha</u>	-	Adultos	-	3,0
<u>Bélgica</u>	2010 – 2011	>18	1001	4,7
Selénio				
<u>Bélgica</u>	2010 – 2011	>18	1001	61,6
<u>Canadá</u>		Todas as idades		130,0
Tálio				
<u>Alemanha GerES IV</u>	2003 – 2006	3 – 14	1729	0,6
<u>Alemanha: ESB</u>	2000 – 2008	20 – 29	-	0,5
<u>Bélgica</u>	2010 – 2011	>18	1001	0,5
Iodo	-	-	-	-

A exposição a locais contaminados industrialmente é também razão de preocupação para as autoridades e população. Do ponto de vista político, a HBM pode ajudar a responder a perguntas como, qual é a exposição total aos elementos químicos de diferentes fontes; como a exposição química evolui ao longo tempo; quais as medidas para reduzir a exposição e as mais eficazes; se existem diferenças na exposição entre regiões ou grupos populacionais; e quais são os grupos altamente expostos [62]. Assim, o objetivo do HM4EU é informar quais as políticas e as estratégias ambientais atuais e futuras relacionadas com os produtos químicos, o meio ambiente e a saúde humana, de forma a diminuir a exposição [59].

A experiência com o HBM difere entre os países europeus e, apesar dos esforços crescentes, ainda faltam dados em Portugal. Nesse contexto, o estudo IoGeneration [16] teve como principal objetivo avaliar a concentração de iodo na urina, conjuntamente com outros elementos potencialmente associados com o seu metabolismo, numa amostra aleatória e representativa da população de crianças de 3 regiões NUTS III do norte de Portugal (Grande Porto, Tâmega e Entre Douro e Vouga). Tendo-se já explorado os níveis de iodo e seus determinantes nesta população de crianças portuguesas em idade escolar, este estudo teve como objetivo explorar os níveis de vários elementos, essenciais e potencialmente tóxicos, assim como avaliar os seus determinantes, interação e potencial impacto na saúde.

OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo geral a caracterização dos níveis de elementos químicos em crianças portuguesas, compreensão dos seus determinantes, interação e potenciais impactos sobre a saúde, recorrendo a dados já recolhidos numa amostra representativa de 3 regiões NUTS III do norte de Portugal (Grande Porto, Tâmega e Entre Douro e Vouga).

Os objetivos específicos deste estudo foram:

- determinar os níveis e valores de referência dos diferentes elementos em crianças nas zonas avaliadas;
- explorar os determinantes dos níveis destes elementos (nomeadamente região, sexo, idade, estilos de vida e alimentação);
- explorar os padrões e potencial interação entre elementos;
- explorar os potenciais impactos sobre a saúde.

METODOLOGIA

Procedimentos previamente realizados no estudo loGeneration

Para a realização do presente estudo recorreu-se à base de dados do estudo “loGeneration – Estado do iodo em Portugal: papel da suplementação em unidades escolares”, realizado entre julho de 2015 e julho de 2016 [16]. Este estudo teve como principal objetivo avaliar a concentração de iodo, e outros elementos potencialmente associados com o seu metabolismo, numa amostra aleatória e representativa da população de crianças de 3 regiões NUTS III do norte de Portugal (Grande Porto, Tâmega e Entre Douro e Vouga). Aquando deste primeiro estudo, as amostras de urina foram analisadas através de espectrometria de massa com plasma indutivo acoplado (ICP-MS). Os elementos químicos quantificados e que foram usados neste estudo foram: iodo, alumínio, antimónio, arsénio, chumbo, cobalto, cobre, cádmio, estanho, manganês, molibdénio, níquel, selénio e tálio.

Desenho do estudo e participantes

O loGeneration é um estudo observacional transversal de uma amostra aleatória e representativa da população de crianças de 3 regiões NUTS III do norte de Portugal (Grande Porto, Tâmega e Entre Douro e Vouga) (**Figura1**). Para a seleção da amostra foi utilizado um método de amostragem complexo multietapas, com estratificação e *clustering* em três níveis, tendo sido selecionados aleatoriamente 17 concelhos, 32 agrupamentos de escolas, 83 escolas e 105 turmas; com 2 turmas de 1º ciclo e 1 turma de 2º ciclo selecionadas em cada agrupamento.

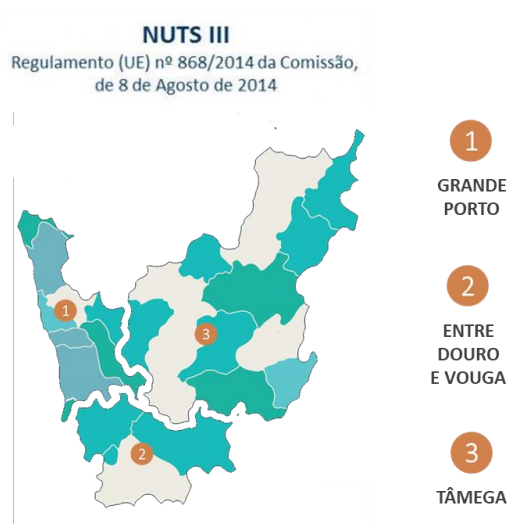


Figura 1. Imagem das 3 regiões do Norte de Portugal incluídas na análise deste estudo.

Neste contexto foram convidadas a participar 2241 crianças das quais 2064 tiveram consentimento de participação pelo encarregado de educação. Após aplicação do critério de exclusão global – idade superior a 12 anos – obteve-se o tamanho amostral de 2018 participantes, 2012 amostras de urina, 1989 respondentes ao questionário geral e 616 respondentes ao questionário *online*.

Declaração de ética

Este estudo foi realizado sob aprovação da Comissão de Ética do Centro Hospitalar de São João/Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. A aplicação dos inquéritos em meio escolar foi devidamente autorizada pela Direção-Geral da Saúde (DGS) e pelas Direções dos agrupamentos de escolas selecionados. O tratamento dos dados foi devidamente autorizado pela Comissão Nacional de Proteção de Dados (CNPd) e o estudo foi registado no *ClinicalTrials.gov* (NCT02608138). Adicionalmente, o presente estudo teve aprovação pela Comissão de Ética da Faculdade Ciências Médicas | NOVA Medical School da Universidade NOVA de Lisboa.

Todos os participantes no estudo tiveram autorização para participação do seu encarregado de educação, mediante assinatura de consentimento informado e esclarecido. Para cada indivíduo foi gerado um código que foi utilizado na identificação de todos os dados recolhidos, garantindo deste modo a confidencialidade e a ocultação no tratamento analítico e de resultados.

Trabalho de campo

O trabalho de campo decorreu entre novembro de 2015 e maio de 2016 e compreendeu dois momentos em cada agrupamento/escola: 1) uma 1ª visita para introdução e esclarecimentos sobre o projeto *loGeneration* aos professores titulares das turmas selecionadas e à direção dos agrupamentos de escolas; 2) uma 2ª visita para recolha de consentimentos de participação, de amostras de urina e de dados (antropometria – medição *in loco* de altura, peso e perímetro da cintura; desempenho cognitivo – aplicação das matrizes coloridas progressivas de Raven; hábitos de vida e comportamentos da criança). Adicionalmente, foi aplicado um questionário *online* aos encarregados de educação (n=615) que pretendeu recolher dados detalhados sobre os hábitos de consumo de outros alimentos considerados bons veículos de iodo na alimentação humana (leite, iogurte e ovos).

Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica (estatura, peso e perímetro da cintura) foi feita por nutricionistas, de acordo com Orientação da DGS 017/2013 e com o Guia de avaliação do estado nutricional infantil e juvenil do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, DGS [68]. A medição da estatura foi feita com um estadiómetro portátil (Seca®, modelo 213), e a medição do peso com uma balança digital portátil (Tanita®, modelo UM-076). Todas as medições foram feitas em duplicado. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado dividindo o peso, em quilogramas, pelo quadrado da estatura, em metros e usando o percentil.

A estatura, o peso e o IMC foram convertidos em percentis de acordo com os critérios das curvas de crescimento da OMS 2007. De acordo com estes critérios, baixo peso (magreza + magreza severa) corresponde a um percentil (P) de IMC inferior a 15 ($P < 15$), peso normal corresponde a $P \geq 15$ e $P < 85$ e excesso de peso/obesidade (excesso de peso + obesidade + obesidade severa) corresponde a $P \geq 85$ [68].

Análise bioquímica

As amostras de urina da primeira amostra da manhã foram colhidas em frascos de 50 ml e foram posteriormente divididas em alíquotas em tubos estéreis que foram armazenados a -80°C . Para a análise, as amostras foram descongeladas, preparadas e quantificadas por espectrometria de massa com plasma indutivo acoplado (ICP – MS) de acordo com o método do CDC 3018.3 [69], que permitiu determinar os níveis dos elementos presentes na primeira urina na manhã (alumínio, antimónio, arsénio, chumbo, cobalto, cobre, cádmio, estanho, manganês, molibdénio, níquel, selénio e tálio). Para o iodo o método utilizado foi a Espectrometria de massa de plasma indutivamente acoplada (CDC 3002.1) [31].

Gestão de dados

Para armazenamento e tratamento de dados, foram criadas bases de dados em SPSS (IBM SPSS Statistics versão 23) para cada área de avaliação efetuada: iodúria e outros elementos, antropometria, psicologia, questionários de hábitos de vida e questionário *online*.

Procedimentos realizados neste estudo

Determinação de níveis e valores de referência dos diferentes elementos

A amostra aleatória e representativa da população de crianças das 3 regiões NUTS III do norte de Portugal foi caracterizada do ponto de vista global e relativamente aos níveis urinários dos diferentes elementos avaliados. No tratamento dos dados relativos aos elementos, e de forma a não introduzir um viés ao eliminar os valores baixos e dessa forma sobrestimar os valores populacionais, as determinações que se encontravam abaixo do limite de deteção (LOD) foram substituídas pela constante $\text{LOD}/2$, de acordo com o recomendado internacionalmente [70]. Adicionalmente, os níveis dos diferentes elementos foram apresentados com e sem o ajuste à creatinina. Com o fim de determinar os valores de referência (VR95) nesta população de referência, calculou-se estatisticamente o percentil 95 dos níveis dos diferentes elementos na urina [70]. Posteriormente, estes VR95 foram comparados com os VR95s de outros países.

Avaliação de determinantes dos níveis dos elementos químicos estudados

Com o intuito de explorar os determinantes que podem influenciar os níveis dos elementos avaliados, nomeadamente região, sexo, idade, estilos de vida e alimentação, realizou-se uma análise descritiva dos níveis dos elementos consoante os determinantes, seguido da sua comparação através de testes de hipóteses paramétricos e não-paramétricos adequados.

Explorar os padrões e potencial interação entre elementos

Os padrões de interação entre elementos foram identificados por análise fatorial usando uma análise de componentes principais (PCA) com rotação *varimax* e usando a matriz de covariância. Os critérios usados foram o *eigenvalue* (> 1 vez a média do *eigenvalue*), *scree plot* e interpretabilidade dos componentes. Os componentes principais são combinações lineares das variáveis de entrada (níveis dos elementos ajustados à creatinina) e explicam o máximo possível a variação nos dados (% variância explicada pelo componente). Cada componente descreve um padrão de interação dos elementos, e a combinação linear permite o cálculo de uma pontuação do componente para cada criança; quanto maior a pontuação, mais provável é que esse padrão esteja presente. Os padrões descritos por cada componente podem ser interpretados por suas cargas fatoriais, que são as correlações entre o componente e cada variável de entrada. Cargas mais altas (valor absoluto) indicam uma correlação positiva ou negativa mais forte entre os níveis do elemento específico e o padrão. Os elementos com cargas acima de $\pm 0,3$ em um componente foram considerados como tendo uma forte correlação com aquele componente. Os padrões descritos foram posteriormente caracterizados e interpretados através da análise de potenciais fatores influenciadores, nomeadamente características das crianças e do seu meio envolvente, mas também dos seus estilos de vida e alimentação.

Análise de dados

Foi feito o teste da normalidade da distribuição de cada variável quantitativa com recurso ao teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados foram sujeitos a análise estatística descritiva para determinação de médias, desvios padrões, medianas, contagens e frequências absolutas e relativas. Para testar hipóteses de independência ou de diferenças de proporções entre categorias de variáveis qualitativas recorreu-se ao teste do qui-quadrado.

Na análise de variáveis quantitativas e para testar hipóteses de diferença de médias entre grupos ou de diferenças da distribuição da variável entre grupos foram usados, respetivamente, testes de hipóteses paramétricos e não-paramétricos. Assim, foram usados o teste *t-student* (comparação de dois grupos) ou a análise de variância (comparação de mais de dois grupos), para variáveis com distribuição normal; e o teste não paramétrico de Mann-Whitney (comparação de dois grupos) ou o teste de Kruskal-Wallis (comparação de mais de dois grupos) para variáveis com distribuição não normal. Para avaliar a existência de padrões de interação entre elementos, foi realizada uma análise PCA. O nível de significância (α) assumido ser de 5%, portanto, nos testes de hipóteses as diferenças serão consideradas estatisticamente significativas sempre que $p < 0,05$.

RESULTADOS

Caracterização da população

Os níveis dos elementos foram determinados em 2012 crianças das três regiões do Norte de Portugal, nomeadamente Grande Porto, Tâmega e Entre Douro e Vouga. Na tabela 3 encontra-se representada a caracterização geral da população em estudo. Das 2012 crianças, 52 % eram do sexo masculino e 48 % do sexo feminino. A média de idades da população total foi de $8,90 \pm 0,04$ anos. Foi realizada a avaliação antropométrica das crianças e categorizada de acordo com as tabelas dos percentis do IMC da OMS (IMC ajustado à idade), sendo que a média do percentil das crianças é de $65,4 \pm 0,66$, sendo a média normoponderal. Numa análise da variação dos parâmetros descritos entre regiões, é possível verificar que todos apresentavam uma distribuição homogénea pelas diferentes regiões.

Tabela 3. Caracterização da população por região.

Variáveis	Total	Grande Porto	Tâmega	Entre Douro e Vouga	Valor de <i>p</i>
Total (n)	2012	835	828	349	
Sexo	0,178 ^a				
Masculino (n; %)	1046; 52,0	448; 53,7	410; 49,5	188; 53,9	
Feminino (n; %)	966; 48,0	387; 46,3	418; 50,5	161; 46,1	
Grupo de idade (n; %)	0,165 ^a				
5 – 6 anos	161; 8,0	72; 8,6	64; 7,7	25; 7,2	
7 – 8 anos	710; 35,3	282; 33,8	286; 34,5	142; 40,7	
9 – 10 anos	654; 32,5	275; 32,9	285; 34,4	94; 26,9	
11 – 12 anos	487; 24,2	206; 24,7	193; 23,3	88; 25,2	
Idade (anos; média \pm DP)	$8,9 \pm 0,04$	$8,9 \pm 1,78$	$8,9 \pm 1,69$	$8,8 \pm 1,85$	0,721 ^b
Peso (Kg; média \pm DP)	$37,43 \pm 8,97$	$37,96 \pm 13,96$	$35,42 \pm 13,75$	$41,03 \pm 22,23$	0,301 ^b
Altura (cm; média \pm DP)	$50,2 \pm 0,66$	$50,6 \pm 1,04$	$49,7 \pm 1,02$	$50,2 \pm 1,16$	0,108 ^b
Percentil do IMC (média \pm DP)	$65,4 \pm 0,66$	$67,1 \pm 1,01$	$64,9 \pm 1,04$	$62,9 \pm 1,59$	0,066 ^b

^a Qui-quadrado; ^b ANOVA; DP, desvio padrão; IMC, índice de massa corporal.

Caracterização dos níveis dos elementos e valores de referência

Mais de 90 % das amostras da primeira urina da manhã das crianças incluídas neste estudo obtiveram uma detecção superior ao limite de detecção (LOD) para todos os elementos avaliados (**Tabela 4**). Os valores abaixo do LOD foram substituídos pela constante LOD/2 e a posterior análise descritiva e comparações foram realizadas com a totalidade da amostra. Considerando os VR95s internacionais descritos na **Tabela 2**, o presente estudo verificou que os VR95s da nossa população de crianças são mais elevados para o arsénio [145,80 (IQR 33,56) µg/L], cobre [45,22 (IQR 12,15) µg/L], níquel [17,79 (IQR 3,94) µg/L] e tálio [0,93 (IQR 0,27) µg/L]. No caso do cádmio é mais elevado comparativamente à Alemanha (0,2 µg/L). Por sua vez os VR95s de cobalto, cobre, manganês e molibdénio são mais elevados em comparação com valores baseados em população geral, exceto o selénio em que os valores determinados encontram-se abaixo dos VR95 dos outros países. (**Tabela 4**). Na análise dos níveis dos elementos com ajuste para a creatinina (**Tabela 5**), os dados mantiveram-se semelhantes conferindo segurança relativamente à comparação com RVs internacionais que também não são ajustados com a creatinina.

Tabela 4. Caracterização dos níveis dos elementos (µg/L) presentes na primeira urina da manhã das crianças em idade escolar (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	% > LOD** (%)	Média (µg/L)	Mediana (µg/L)	IQR* (µg/L)	VR95 (P95) (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
Alumínio	99,20	9,00	6,47	6,62	25,89	0,01	93,48
Antimónio	92,69	0,11	0,06	0,06	0,17	0,00	7,26
Arsénio (Total)	99,65	50,14	29,97	33,56	145,80	0,14	1337,11
Cádmio	91,40	0,28	0,25	0,24	0,66	0,00	1,82
Chumbo	97,91	0,78	0,61	0,57	2,02	0,00	17,86
Cobalto	99,85	0,95	0,71	0,71	2,41	0,00	7,91
Cobre	97,66	21,35	18,32	12,15	45,22	0,06	281,27
Estanho	99,16	1,42	0,59	1,07	4,49	0,01	193,72
Manganês	99,65	1,59	1,21	1,44	3,77	0,00	15,74
Molibdénio	99,95	65,07	56,20	46,57	143,48	0,04	422,39
Níquel	99,60	6,09	4,57	3,94	17,79	0,02	59,70
Selénio	93,09	38,08	36,05	25,57	78,32	0,02	214,88
Tálio	95,97	0,34	0,27	0,27	0,93	0,00	2,28
Iodo	100	145,48	128,80	93,78	297,54	9,50	4162,40

*IQR – Intervalo Interquartil; **LOD, limite de detecção

Tabela 5. Caracterização dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	% > LOD** (%)	Média ($\mu\text{g/g}$)	Mediana ($\mu\text{g/g}$)	IQR* ($\mu\text{g/g}$)	VR (P95) ($\mu\text{g/g}$)	Mínimo ($\mu\text{g/g}$)	Máximo ($\mu\text{g/g}$)
Alumínio	99,20	10,10	6,09	7,31	30,05	0,00	156,94
Antimónio	92,69	0,10	0,06	0,06	0,18	0,00	5,71
Arsénio (Total)	99,65	50,30	29,85	31,25	143,86	0,15	1684,81
Cádmio	91,40	0,27	0,24	0,22	0,62	0,00	1,67
Chumbo	97,91	0,76	0,60	0,48	1,84	0,00	23,82
Cobalto	99,85	0,91	0,71	0,64	2,17	0,01	14,94
Cobre	97,66	21,41	17,63	10,88	47,03	0,03	289,97
Estanho	99,16	1,36	0,58	0,97	4,41	0,01	186,28
Manganês	99,65	1,74	1,16	1,54	4,57	0,00	35,22
Molibdénio	99,95	63,04	56,53	41,31	124,34	0,06	680,40
Níquel	99,60	6,25	4,36	3,59	17,82	0,02	146,33
Selénio	93,09	37,82	35,72	23,02	76,26	0,02	233,56
Tálio	95,97	0,37	0,25	0,29	0,99	0,00	10,05
Iodo	100	147,64	125,90	100,30	308,28	24,03	2870,62

*IQR – Intervalo Interquartil; **LOD, limite de deteção

Determinantes de exposição

De forma a avaliar quais os principais determinantes de exposição dos contaminantes estudados neste estudo, diferentes análises foram efetuadas consoante a região (Grande Porto, Tâmega e Entre Douro e Vouga), sexo e idade das crianças incluídas neste estudo.

Região

Na região do Grande Porto o VR95 dos elementos os níveis do arsénio, cobre, manganês, níquel e tálio foram elevados comparativamente aos VR95s internacionais (**Tabela 6**). O mesmo se verificou na região do Entre Douro e Vouga (**Tabela 8**) e na região do Tâmega (**Tabela 7**). Porém, a região do Entre Douro e Vouga, para além de se observar o mesmo resultado, o cádmio também está com valor mais baixo comparado com outros países (**Tabela 8**).

Tabela 6. Níveis dos elementos (µg/L) presentes na primeira urina da manhã das crianças da região do Grande Porto (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média (µg/L)	Mediana (µg/L)	IQR* (µg/L)	VR (P95) (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
Alumínio	9,71	7,43	7,54	28,43	0,01	86,37
Antimónio	0,09	0,06	0,08	0,17	0,00	7,26
Arsénio (Total)	53,51	31,39	37,34	161,32	0,14	1337,11
Cádmio	0,33	0,29	0,25	0,74	0,00	1,82
Chumbo	0,76	0,61	0,52	1,92	0,00	16,78
Cobalto	1,12	0,86	0,85	2,87	0,00	7,91
Cobre	23,79	19,39	16,26	58,41	0,03	289,97
Estanho	1,58	0,64	1,09	4,43	0,01	193,73
Manganês	1,64	1,16	1,46	3,86	0,00	15,74
Molibdénio	68,90	59,22	46,11	151,43	0,04	422,39
Níquel	6,27	4,66	4,36	17,28	0,02	59,70
Selénio	34,54	33,57	27,85	74,99	0,02	156,37
Tálio	0,34	0,29	0,23	0,85	0,00	2,23
Iodo	136,36	116,00	84,80	281,40	19,30	4162,40

*IQR – Intervalo Interquartil

Tabela 7. Níveis dos elementos (µg/L) presentes na primeira urina da manhã das crianças da região do Tâmega (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média (µg/L)	Mediana (µg/L)	IQR* (µg/L)	VR (P95) (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
Alumínio	13,73	9,06	10,01	39,70	1,92	93,48
Antimónio	0,18	0,06	0,05	0,75	0,00	5,17
Arsénio (Total)	46,44	27,27	35,24	128,53	3,27	977,19
Cádmio	0,33	0,29	0,24	0,70	0,00	1,23
Chumbo	0,92	0,66	0,69	2,70	0,00	6,69
Cobalto	1,09	0,83	0,80	2,68	0,22	7,22
Cobre	21,47	18,91	10,34	39,07	0,19	174,45
Estanho	1,29	0,56	1,10	4,03	0,03	63,01
Manganês	1,63	1,02	1,61	4,43	0,13	7,51
Molibdénio	66,03	58,76	45,03	135,41	9,18	358,80
Níquel	5,08	4,47	3,19	9,84	1,01	21,04
Selénio	40,50	38,69	27,70	82,58	0,45	214,88
Tálio	0,43	0,33	0,36	1,11	0,00	2,15
Iodo	148,62	134,40	92,90	271,80	39,00	632,10

*IQR – Intervalo Interquartil

Tabela 8. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças da região do Entre Douro e Vouga (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média ($\mu\text{g/L}$)	Mediana ($\mu\text{g/L}$)	IQR* ($\mu\text{g/L}$)	VR (P95) ($\mu\text{g/L}$)	Mínimo ($\mu\text{g/L}$)	Máximo ($\mu\text{g/L}$)
Alumínio	6,28	4,92	4,59	16,45	0,07	78,62
Antimónio	0,08	0,07	0,05	0,15	0,00	0,83
Arsénio (Total)	48,30	29,74	30,13	133,93	0,15	877,28
Cádmio	0,22	0,19	0,19	0,53	0,00	1,12
Chumbo	0,73	0,58	0,60	1,84	0,00	17,86
Cobalto	0,72	0,57	0,47	1,72	0,05	7,24
Cobre	18,99	16,24	9,92	35,08	0,14	211,01
Estanho	1,32	0,58	1,06	4,78	0,01	34,49
Manganês	1,53	1,34	1,39	3,09	0,08	14,44
Molibdénio	60,80	51,82	44,95	141,59	3,15	299,55
Níquel	6,34	4,54	4,08	18,96	0,02	48,53
Selénio	40,64	37,10	23,92	80,17	0,37	214,68
Tálio	0,31	0,23	0,27	0,85	0,00	2,28
Iodo	153,35	137,45	98,78	318,53	9,50	583,90

*IQR – Intervalo Interquartil

Na **tabela 9** encontra-se descrita a análise comparativa dos valores medianos dos elementos das três regiões. Verificou-se que na região do Grande Porto os níveis de arsénio [31,39 (IQR 35,24) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$] e estanho [0,64 (IQR 1,09) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$] eram superiores aos da região do Tâmega e Entre Douro e Vouga. Por outro lado, os níveis de selénio e iodo foram mais baixos na região do Grande Porto. A região de Entre Douro e Vouga destacou-se pelos valores mais elevados de alumínio [9,06 (IQR 10,01) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$], chumbo [0,66 (IQR 0,69) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$] e tálio [0,33 (IQR 0,36) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$] em comparação às regiões vizinhas. As crianças residentes na região do Tâmega apresentavam níveis mais baixos de cobalto [0,57 (IQR 0,47) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$], cobre [16,24 (IQR 9,92) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$] e molibdénio [51,82 (IQR 44,95) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$] e, ainda, valores mais elevados de iodo [137,45 (IQR 98,78) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$]. No que diz respeito aos valores do elemento potencialmente tóxico, antimónio, e aos elementos provavelmente essenciais, manganês e níquel, não foram observadas diferenças entre as regiões estudadas. Quando justado à creatinina, o perfil dos elementos manteve-se entre as regiões estudadas, exceto o níquel que passou a ser mais elevado no Porto e no Entre Douro e Vouga (**Tabela 10**).

Tabela 9. Comparação entre regiões dos níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas por região estudada mais elevadas a negrito).

Elemento	Região						Valor <i>p</i>
	Porto		Tâmega		Entre Douro e Vouga		
	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	
Alumínio	7,43	7,54	4,92	4,59	9,06	10,01	<0,001
Antimónio	0,06	0,08	0,07	0,05	0,06	0,05	0,51
Arsénio (Total)	31,39	37,34	29,74	30,13	27,27	35,24	<0,001
Cádmio	0,29	0,25	0,19	0,19	0,29	0,24	<0,001
Chumbo	0,61	0,52	0,58	0,60	0,66	0,69	<0,001
Cobalto	0,86	0,85	0,57	0,47	0,83	0,80	<0,001
Cobre	19,39	16,26	16,24	9,92	18,91	10,34	<0,001
Estanho	0,64	1,09	0,58	1,06	0,56	1,10	<0,001
Manganês	1,16	1,46	1,34	1,39	1,02	1,61	0,56
Molibdénio	59,22	46,11	51,82	44,95	58,76	45,03	<0,001
Níquel	4,66	4,36	4,54	4,08	4,47	3,19	0,85
Selénio	33,57	27,85	37,10	23,92	38,69	27,70	<0,001
Tálio	0,29	0,23	0,23	0,27	0,33	0,36	<0,001
Iodo	116,00	84,80	137,45	98,78	134,40	92,90	<0,001

*IQR - Intervalo interquartil. Teste estatístico *Kruskal-Wallis*, $p < 0,05$

Tabela 10. Comparação entre regiões dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas por região estudada mais elevadas a negrito).

Elemento	Região						Valor <i>p</i>
	Porto		Tâmega		Entre Douro e Vouga		
	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	
Alumínio	7,07	8,02	4,58	4,42	9,14	10,56	<0,001
Antimónio	0,06	0,07	0,07	0,05	0,05	0,04	0,468
Arsénio (Total)	31,83	34,65	29,79	27,14	25,35	33,65	<0,001
Cádmio	0,29	0,21	0,19	0,17	0,29	0,24	<0,001
Chumbo	0,59	0,42	0,56	0,52	0,69	0,69	<0,001
Cobalto	0,82	0,76	0,55	0,47	0,88	0,70	<0,001
Cobre	19,39	16,28	16,24	8,21	18,91	9,56	<0,001
Estanho	0,61	1,01	0,57	0,91	0,58	1,01	<0,001
Manganês	1,16	1,46	1,18	1,46	1,08	1,79	0,951
Molibdénio	60,01	43,48	51,59	39,12	59,60	42,11	<0,001
Níquel	4,49	3,66	4,13	3,84	4,57	2,82	0,039
Selénio	33,17	23,04	36,54	22,40	40,19	26,24	<0,001
Tálio	0,26	0,25	0,22	0,28	0,33	0,40	<0,001
Iodo	113,92	85,69	131,83	105,35	141,40	112,27	<0,001

*IQR - Intervalo interquartil. Teste estatístico *Kruskal-Wallis*, $p < 0,05$

Sexo

Ao analisar o sexo masculino, verificou-se que o arsénio, cobre, manganês, e tálio encontram-se em quantidades elevadas em relação ao VR internacional (**Tabela 11**). Acontecendo o mesmo no sexo feminino (**Tabela 12**).

Tabela 11. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do sexo masculino (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média ($\mu\text{g/L}$)	Mediana ($\mu\text{g/L}$)	IQR* ($\mu\text{g/L}$)	VR (P95) ($\mu\text{g/L}$)	Mínimo ($\mu\text{g/L}$)	Máximo ($\mu\text{g/L}$)
Alumínio	8,84	6,31	6,55	24,58	0,01	93,48
Antimónio	0,08	0,06	0,06	0,17	0,00	2,27
Arsénio (Total)	48,85	28,47	33,56	136,41	0,14	1337,11
Cádmio	0,29	0,26	0,24	0,66	0,00	1,24
Chumbo	0,75	0,60	0,58	1,92	0,00	6,69
Cobalto	0,95	0,71	0,69	2,55	0,00	7,22
Cobre	21,02	17,74	12,30	46,61	0,06	121,25
Estanho	1,43	0,53	0,96	4,15	0,01	193,73
Manganês	1,58	1,22	1,44	3,71	0,00	14,56
Molibdénio	66,69	58,29	46,50	145,91	0,04	333,45
Níquel	6,22	4,73	3,89	18,46	0,02	48,53
Selénio	37,62	35,95	24,62	75,13	0,02	214,68
Tálio	0,35	0,27	0,27	0,87	0,00	2,23
Iodo	149,26	136,95	96,67	315,62	9,50	878,00

*IQR – Intervalo Interquartil

Tabela 12. Níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças do sexo feminino (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média ($\mu\text{g/L}$)	Mediana ($\mu\text{g/L}$)	IQR* ($\mu\text{g/L}$)	VR (P95) ($\mu\text{g/L}$)	Mínimo ($\mu\text{g/L}$)	Máximo ($\mu\text{g/L}$)
Alumínio	9,16	6,61	6,73	26,55	0,01	86,37
Antimónio	0,11	0,06	0,06	0,17	0,00	7,26
Arsénio (Total)	51,54	31,43	34,80	154,34	0,15	877,28
Cádmio	0,27	0,23	0,23	0,65	0,00	1,82
Chumbo	0,81	0,61	0,56	2,15	0,00	17,86
Cobalto	0,95	0,72	0,74	2,35	0,01	7,91
Cobre	21,70	18,82	11,96	44,15	0,06	281,27
Estanho	1,42	0,66	1,17	4,95	0,01	34,46
Manganês	1,61	1,19	1,43	3,84	0,00	15,74
Molibdénio	63,31	54,15	43,03	142,87	6,36	422,39
Níquel	5,96	4,42	4,06	15,64	0,02	59,70
Selénio	38,58	36,14	26,82	79,61	0,13	214,88
Tálio	0,34	0,25	0,27	0,99	0,00	2,28
Iodo	141,38	122,85	92,43	282,32	23,10	4162,40

*IQR – Intervalo Interquartil

Tento em consideração o sexo das crianças incluídas no estudo, os níveis de arsénio e estanho mostraram ser superiores no sexo feminino [31,43 (IQR 34,80) $\mu\text{g/L}$; $p = 0,012$ e 0,66 (IQR 1,17) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$, respetivamente] em comparação com as crianças do sexo masculino [28,47 (IQR 33,56) $\mu\text{g/L}$; $p = 0,012$ e 0,53 (IQR 0,96) $\mu\text{g/L}$; $p < 0,001$, respetivamente] (**Tabela 13**). Por outro lado, os níveis de cádmio, molibdénio e iodo [0,26 (IQR 0,24) $\mu\text{g/L}$; $p = 0,002$, 58,29 (IQR 46,50) $\mu\text{g/L}$; $p = 0,005$ e 136,95 (IQR 96,97) $\mu\text{g/L}$; $p = 0,002$ respetivamente] mostraram ser superiores no sexo masculino (**Tabela 13**). Quando ajustado à creatinina, os valores de arsénio perdem o significado estatístico ($p = 0,666$), sendo que relativamente aos outros elementos não houve diferenças com e sem o ajuste à creatinina entre os sexos masculino e feminino (**Tabela 14**).

Tabela 13. Comparação entre sexos dos níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas do sexo mais elevadas a negrito).

Elemento	Sexo				Valor <i>p</i>
	Masculino		Feminino		
	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	
Alumínio	6,31	6,55	6,61	6,73	0,431
Antimónio	0,06	0,06	0,06	0,06	0,629
Arsénio (Total)	28,47	33,56	31,43	34,80	0,012

Cádmio	0,26	0,24	0,23	0,23	0,002
Chumbo	0,60	0,58	0,61	0,56	0,594
Cobalto	0,71	0,69	0,72	0,74	0,712
Cobre	17,74	12,30	18,82	11,96	0,303
Estanho	0,53	0,96	0,66	1,17	<0,001
Manganês	1,22	1,44	1,19	1,43	0,460
Molibdénio	58,29	46,50	54,15	43,03	0,005
Níquel	4,73	3,89	4,42	4,06	0,185
Selénio	35,95	24,62	36,14	26,82	0,862
Tálio	0,27	0,27	0,25	0,27	0,091
Iodo	136,95	96,97	122,85	92,43	0,002

*IQR – Intervalo Interquartil. Teste estatístico *Mann – Whitney*, $p < 0,05$.

Tabela 14. Comparação entre sexos dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas do sexo mais elevadas a negrito).

Elemento	Sexo				Valor <i>p</i>
	Masculino		Feminino		
	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	
Alumínio	6,02	6,78	6,15	7,42	0,538
Antimónio	0,06	0,05	0,06	0,06	0,538
Arsénio (Total)	28,70	31,61	31,15	31,68	0,666
Cadmio	0,25	0,22	0,23	0,21	0,002
Chumbo	0,59	0,46	0,60	23,82	0,212
Cobalto	0,71	14,93	0,71	0,65	0,482
Cobre	17,55	11,70	17,81	10,32	0,303
Estanho	0,54	0,89	0,66	1,09	<0,001
Manganês	1,19	1,53	1,15	1,56	0,280
Molibdénio	58,38	42,04	53,75	41,44	0,001
Níquel	4,42	3,69	4,28	3,45	0,251
Selénio	35,62	23,36	35,91	22,64	0,862
Tálio	0,26	0,28	0,25	0,30	0,125
Iodo	130,86	96,48	117,17	103,08	0,003

*IQR- Intervalo interquartil. Teste estatístico *Mann – Whitney*, $p < 0,05$.

Idade

De forma a averiguar se existem diferenças dos níveis dos elementos entre as diferentes faixas etárias, as crianças foram agrupadas em 4 grupos distintos: dos 5 aos 6 anos; dos 7 aos 8 anos; dos 9 aos 10 anos; e dos 11 aos 12 anos. Nas **Tabelas 15, 16, 17, 18** estão apresentados os níveis dos diferentes elementos por grupo etário.

Tabela 15. Níveis dos elementos (µg/L) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 5 – 6 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média (µg/L)	Mediana (µg/L)	IQR* (µg/L)	VR (P95) (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
Alumínio	8,08	4,89	8,35	22,87	0,01	86,37
Antimônio	0,14	0,06	0,06	0,26	0,00	3,53
Arsénio (Total)	50,96	30,76	32,36	162,11	3,00	985,55
Cádmio	0,28	0,26	0,22	0,58	0,00	0,98
Chumbo	0,82	0,68	0,59	2,06	0,01	3,86
Cobalto	0,77	0,58	0,63	1,83	0,00	4,90
Cobre	16,63	15,26	8,66	30,44	0,29	40,77
Estanho	1,76	0,73	1,66	7,08	0,02	22,18
Manganês	0,96	0,72	0,57	2,45	0,11	7,77
Molibdénio	65,39	60,66	44,95	125,00	11,64	252,27
Níquel	4,19	3,28	3,29	10,19	0,02	27,56
Selénio	37,65	36,73	25,64	81,98	0,36	214,88
Tálio	0,35	0,30	0,26	0,76	0,00	2,09
Iodo	170,61	157,30	97,30	335,85	24,20	488,60

*IQR – Intervalo Interquartil

Tabela 16. Níveis dos elementos (µg/L) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 7 – 8 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média (µg/L)	Mediana (µg/L)	IQR* (µg/L)	VR (P95) (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
Alumínio	9,61	6,86	6,74	27,99	0,06	93,48
Antimônio	0,09	0,07	0,06	0,18	0,00	2,06
Arsénio (Total)	50,22	27,28	31,71	141,26	0,14	977,19
Cádmio	0,29	0,25	0,25	0,66	0,00	1,82
Chumbo	0,79	0,59	0,54	2,16	0,00	17,86
Cobalto	0,93	0,74	0,68	2,33	0,01	6,52
Cobre	20,86	17,69	12,24	49,33	0,06	121,25
Estanho	1,40	0,60	1,14	4,73	0,01	63,01
Manganês	1,75	1,33	1,66	3,87	0,01	13,99
Molibdénio	64,66	54,96	45,25	145,02	0,04	422,39
Níquel	6,49	4,43	3,64	21,42	0,02	48,53
Selénio	36,96	35,13	24,26	73,11	0,13	156,37
Tálio	0,33	0,26	0,24	0,88	0,00	2,04
Iodo	157,54	137,70	97,30	310,30	19,30	4162,40

*IQR – Intervalo Interquartil

Tabela 17: Níveis dos elementos (µg/L) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 9 – 10 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média (µg/L)	Mediana (µg/L)	IQR* (µg/L)	VR (P95) (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
Alumínio	8,78	6,56	6,51	24,72	0,01	73,32
Antimónio	0,10	0,06	0,06	0,18	0,00	5,17
Arsénio (Total)	47,97	31,38	32,15	134,78	0,19	1337,11
Cádmio	0,26	0,23	0,22	0,60	0,00	1,02
Chumbo	0,74	0,57	0,51	1,84	0,00	16,78
Cobalto	0,92	0,66	0,71	2,30	0,01	7,91
Cobre	22,21	18,58	11,69	47,18	0,06	281,27
Estanho	1,24	0,57	1,03	4,22	0,01	34,49
Manganês	1,60	1,22	1,43	3,80	0,00	15,74
Molibdénio	62,48	54,54	44,76	134,25	6,36	322,08
Níquel	5,84	4,61	3,85	15,08	0,02	59,70
Selénio	38,02	35,81	23,84	78,78	0,02	117,69
Tálio	0,35	0,29	0,31	0,89	0,00	2,15
Iodo	139,32	125,35	90,23	288,75	23,10	583,90

*IQR – Intervalo Interquartil

Tabela 18: Níveis dos elementos (µg/L) presentes na primeira urina da manhã das crianças do grupo etário 11 – 12 anos (RVs superiores aos RVs internacionais estão a negrito).

Elementos	Média (µg/L)	Mediana (µg/L)	IQR* (µg/L)	VR (P95) (µg/L)	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)
Alumínio	8,69	6,15	6,28	24,91	0,01	75,12
Antimónio	0,10	0,07	0,06	0,16	0,00	7,26
Arsénio (Total)	52,66	31,78	41,75	165,83	0,15	704,14
Cádmio	0,31	0,26	0,25	0,79	0,00	1,52
Chumbo	0,79	0,65	0,69	2,05	0,00	4,34
Cobalto	1,08	0,78	0,85	2,72	0,01	7,58
Cobre	22,47	20,17	12,68	44,06	0,06	91,04
Estanho	1,60	0,58	0,93	4,21	0,01	193,73
Manganês	1,56	1,27	1,28	3,80	0,00	14,44
Molibdénio	69,04	58,51	50,45	161,78	9,18	358,80
Níquel	6,48	5,01	4,53	15,27	0,02	45,90
Selénio	39,94	37,63	28,86	81,11	0,13	214,68
Tálio	0,32	0,20	0,29	1,08	0,00	10,05
Iodo	127,84	114,60	82,40	256,28	9,50	450,70

*IQR – Intervalo Interquartil

Comparando os quatro grupos etários observou-se níveis mais elevados nos elementos arsénio, cobalto, cobre, níquel e selénio nas crianças com idades compreendidas entre os 11 e os 12 anos. No grupo etário entre os 5 – 6 anos, é possível observar que existe uma maior quantidade de chumbo, estanho, molibdénio, tálio e iodo. (**Tabela 19**). Em alguns casos são difíceis de dizer claramente quais os grupos etários que apresentam níveis mais elevados. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos no estanho ($p = 0,284$), molibdénio ($p = 0,171$), selénio ($p = 0,277$) e tálio ($p = 0,095$). Contudo, quando ajustado à creatinina, o perfil dos níveis dos elementos referidos alterou-se, sendo que, com esta análise, todos os elementos apresentaram diferenças entre os grupos etários estudados e foram as crianças com a faixa etária dos 5 aos 8 anos de idade que apresentaram valores mais elevados (**Tabela 20**).

Tabela 19. Comparação entre grupos etários dos níveis dos elementos ($\mu\text{g/L}$) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas de grupos etários mais elevadas a negrito).

Elemento	Grupo etário								Valor <i>p</i>
	5 - 6 anos		7 – 8 anos		9 – 10 anos		11 – 12 anos		
	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	
Alumínio	4,89	8,35	6,86	6,42	6,56	6,51	6,15	6,28	<0,001
Antimónio	0,06	0,06	0,07	0,06	0,06	0,06	0,07	0,06	0,006
Arsénio (Total)	30,76	32,36	27,28	31,71	31,38	32,15	31,78	41,75	0,009
Cádmio	0,26	0,22	0,25	0,25	0,23	0,22	0,26	0,25	0,002
Chumbo	0,68	0,59	0,59	0,54	0,57	0,51	0,65	0,69	0,033
Cobalto	0,58	0,53	0,74	0,68	0,66	0,71	0,78	0,85	<0,001
Cobre	15,26	8,66	17,69	12,24	18,58	11,69	20,17	12,68	<0,001
Estanho	0,73	1,66	0,60	1,14	0,57	1,03	0,58	0,93	0,284
Manganês	0,72	0,57	1,33	1,66	1,22	1,43	1,27	1,28	<0,001
Molibdénio	60,66	44,95	54,96	45,25	54,54	44,76	58,51	50,45	0,171
Níquel	3,28	3,29	4,43	3,64	4,61	3,85	5,02	4,53	<0,001
Selénio	36,73	25,64	35,13	24,26	35,81	23,84	37,63	28,86	0,277
Tálio	0,30	0,26	0,26	0,24	0,29	0,31	0,25	0,29	0,095
Iodo	157,30	97,30	137,70	97,30	125,35	90,23	114,60	82,40	<0,001

*IQR - Intervalo Interquartil. Teste estatístico *Kruskal-Wallis*, $p < 0,05$

Tabela 20. Comparação entre grupos etários dos níveis dos elementos ajustados à creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) presentes na primeira urina da manhã das crianças (medianas de grupos etários mais elevadas a negrito).

Elemento	Grupo etário								Valor p
	5 - 6 anos		7 – 8 anos		9 – 10 anos		11 – 12 anos		
	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	Mediana	IQR*	
Alumínio	5,74	11,09	7,49	8,16	5,91	6,36	5,23	5,21	<0,001
Antimónio	0,06	0,07	0,07	0,06	0,06	0,05	0,05	0,04	<0,001
Arsénio (Total)	35,67	36,32	30,79	31,24	29,13	28,72	26,36	33,37	<0,001
Cadmio	0,32	0,19	0,27	0,24	0,21	0,20	0,22	0,17	<0,001
Chumbo	0,79	0,52	0,67	0,54	0,55	0,43	0,52	0,46	<0,001
Cobalto	0,72	0,63	0,82	0,71	0,64	0,57	0,66	0,61	<0,001
Cobre	18,21	9,54	19,00	13,73	17,33	10,57	16,29	9,58	<0,001
Estanho	0,89	1,80	0,66	1,04	0,56	0,89	0,48	0,75	<0,001
Manganês	0,95	1,07	1,51	1,98	1,19	1,46	0,97	1,08	<0,001
Molibdénio	76,31	45,15	61,57	45,23	53,85	36,89	47,55	36,65	<0,001
Níquel	3,87	3,29	4,73	4,10	4,30	3,49	4,05	3,44	<0,001
Selénio	41,84	28,54	39,11	23,21	34,61	21,37	30,60	22,49	<0,001
Tálio	0,31	0,33	0,28	0,32	0,26	0,31	0,20	0,20	<0,001
Iodo	189,35	134,53	149,12	114,58	120,51	88,21	89,17	67,25	<0,001

*IQR - Intervalo Interquartil. Teste estatístico *Kruskal-Wallis*, $p < 0,05$

Avaliação da adesão dos padrões

De forma a identificar padrões de interação entre elementos e dessa forma categorizar as crianças e suas características, realizou-se uma análise de componentes principais (PCA). Obtiveram-se 3 padrões distintos que no conjunto ajudam a explicar 45,4% da variância nos dados. O padrão 1 explica 21,5% da variância e caracterizou-se por concentrações mais elevadas de manganês, cobre, níquel, alumínio, cobalto e chumbo, apresentando uma mistura dos três grupos de elementos, essenciais, possivelmente essenciais e potencialmente tóxicos. O padrão 2 explica 13,0% da variância e caracterizou-se por uma maior concentração de cádmio e molibdénio, fazendo parte do grupo potencialmente tóxico e essencial respetivamente. Por fim, o padrão 3 explica 10,9% da variância e caracterizou-se pela presença dos elementos potencialmente tóxicos, tálio e arsénio, e dos elementos essenciais, iodo e selénio (Tabela 21).

Tabela 21. Cargas fatoriais dos níveis dos elementos ajustados à creatinina identificadas pela análise de componentes principais com rotação *varimax* (cargas acima de $\pm 0,3$ sombreadas na cor do padrão correspondente).

	Padrões		
	Padrão 1	Padrão 2	Padrão 3
% variância explicada por cada padrão	21,5	13,0	10,9

Elemento			
Manganês	0,799	0,030	0,055
Cobre	0,614	0,208	-0,026
Níquel	0,601	-0,253	0,156
Alumínio	0,573	0,163	0,121
Cobalto	0,531	0,006	0,051
Chumbo	0,400	0,312	0,007
Cádmio	0,104	0,908	0,018
Molibdénio	0,064	0,834	0,152
Selénio	0,096	-0,094	0,764
Tálio	0,121	0,125	0,601
Iodo	0,054	0,094	0,503
Arsénio	-0,013	0,000	0,478

Como referido anteriormente, foram criados três padrões de modo a perceber as potenciais interações entre os elementos e o impacto que poderão ter na população. Para tal, começou-se por fazer uma caracterização dos padrões através da análise de potenciais fatores influenciadores, nomeadamente características das crianças e do seu meio envolvente (**Tabela 22**), mas também dos seus estilos de vida e alimentação (**Tabela 23**). Pela caracterização da população, verificou-se que a adesão ao padrão 1 e 2 entre as regiões estudadas era semelhante, sendo alta no Grande Porto e no Entre Douro e Vouga, e baixa no Tâmega ($p = <0,001$). Em contrapartida, no padrão 3 o Grande Porto apresentava uma adesão baixa, mantendo-se o Entre Douro e Vouga com a maior taxa de adesão ($p = <0,001$). Relativamente às diferenças entre sexos, apenas se observou diferenças no padrão 2 ($p = 0,012$), sendo que o sexo masculino teve alta adesão a este padrão comparativamente com o sexo feminino. Já relativamente às idades, de uma forma geral, os mais novos apresentavam maior adesão aos diferentes padrões ($p = <0,001$), sendo mais evidente para os padrões 2 e 3. Como seria de esperar, quando se analisou a escolaridade verificou-se que os alunos mais novos do 1º ao 4º ano apresentavam alta adesão em todos os padrões ($p = <0,001$ e $p = 0,002$ para o padrão 1). Na análise das idades dos pais, verificaram-se que não existem diferenças na idade das mães nos diferentes padrões. Por sua vez, ao observar a idade do pai com os padrões, observa-se que só existem diferenças no padrão 1 ($p =$

0,018), apresentando uma adesão média aos elementos presentes neste padrão. Não se verificaram diferenças no parâmetro de doenças crónicas e na toma de medicação. Porém, ao analisar a toma de suplementos vitamínicos, verificou-se que as crianças que não tomam os suplementos têm maior adesão ao padrão 1 ($p = 0,039$). No estado da casa verifica-se uma adesão ao padrão 1 quando a casa apresenta alguns ou muitos problemas ($p = 0,048$). Por fim, em relação às classes do IMC, observou-se que existem diferenças no padrão 2 ($p = 0,024$), sendo que os indivíduos com obesidade e obesidade severa apresentam uma adesão baixa a este padrão.

Quando foi realizada a análise pelas características alimentares das crianças (**Tabela 23**), verificou-se que crianças que frequentavam a cantina da escola não apresenta diferenças estatísticas. No presente estudo, não se verificou associação entre o consumo de marisco e ovo e os padrões 1, 2 ou 3. Ou seja, a ingestão destes alimentos, não mostrou influenciar significativamente a predisposição para um ou outro padrão.

Por sua vez, as crianças que comiam papas de bebé mais de 1 vez por semana tinham adesão elevada ao padrão 2 ($p < 0,001$), enquanto no consumo de peixe mais de 1 vez por semana tem maior adesão ao padrão 3 ($p < 0,001$). Por fim, o iogurte e o leite, quando consumidos mais de 2 copos ou iogurtes por dia, apresentam uma alta relação com o padrão 3 ($p < 0,001$ e $0,009$).

Tabela 22. Avaliação da adesão aos padrões pelas características e meio envolvente das crianças (valores mais elevados a negrito).

	Adesão ao padrão 1				Adesão ao padrão 2				Adesão ao padrão 3			
	Baixa	Média	Alta	<i>p</i>	Baixa	Média	Alta	<i>P</i>	Baixa	Média	Alta	<i>p</i>
Região n (%)												
Grande Porto	228 (27,3)	275 (32,9)	332 (39,8)	<0,001 ¹	202 (24,2)	294 (35,2)	339 (40,6)	<0,001 ¹	341 (40,8)	268 (32,1)	226 (27,1)	<0,001 ¹
Tâmega	349 (42,1)	279 (33,7)	200 (24,2)		387 (46,7)	264 (31,9)	177 (21,4)		237 (28,6)	298 (36,0)	293 (35,4)	
Entre Douro e Vouga	94 (26,9)	116 (33,2)	139 (39,8)		82 (23,5)	112 (32,1)	155 (44,4)		95 (27,2)	100 (28,7)	154 (44,1)	
Sexo n (%)												
Masculino	349 (33,4)	344 (32,9)	353 (33,7)	0,898	329 (31,5)	337 (32,2)	380 (36,3)	0,012 ¹	338 (32,3)	350 (33,5)	358 (34,2)	0,517
Feminino	328 (33,3)	326 (33,7)	318 (32,9)		342 (35,4)	333 (34,5)	291 (30,1)		335 (34,7)	316 (32,7)	315 (32,6)	
Idade da criança n (%)												
5 – 6 anos	73 (45,3)	40 (24,8)	48 (29,8)	<0,001 ¹	28 (17,4)	43 (26,7)	90 (55,9)	<0,001 ¹	22 (13,7)	52 (32,3)	87 (54,0)	<0,001 ¹
7 – 8 anos	195 (27,5)	216 (30,4)	299 (42,1)		196 (27,6)	233 (32,8)	281 (39,6)		177 (24,9)	235 (33,1)	298 (42,0)	
9 – 10 anos	218 (33,3)	231 (35,3)	205 (31,3)		250 (38,2)	230 (35,2)	174 (26,6)		234 (35,8)	228 (34,9)	182 (29,4)	

11 – 12 anos	185 (38,0)	183 (37,6)	119 (24,4)		197 (40,5)	164 (33,7)	126 (25,9)		240 (49,3)	151 (31,0)	96 (19,7)	
Escolaridade n (%)												
1º - 4º ano	453 (33,5)	418 (30,9)	480 (35,5)	0,002 ¹	392 (29,0)	449 (33,2)	510 (37,7)	<0,001 ¹	383 (28,3)	443 (32,8)	525 (38,9)	<0,001 ¹
5º - 6ºano	218 (33,0)	252 (38,1)	191 (28,9)		279 (42,2)	221 (33,4)	161 (24,4)		290 (43,9)	223 (33,7)	148 (22,4)	
Doenças crónicas n (%)												
Sim	44 (33,3)	36 (27,3)	52 (39,4)	0,439	36 (27,3)	44 (33,3)	52 (39,4)	0,747	51 (38,6)	38 (28,8)	43 (32,6)	0,659
Não	386 (33,0)	380 (32,5)	404 (34,5)		264 (22,6)	412 (35,2)	494 (42,2)		416 (35,6)	364 (31,1)	390 (33,3)	
Medicação n (%)												
Sim	53 (30,1)	57 (32,4)	66 (37,5)	0,536	37 (21,0)	67 (38,1)	72 (40,9)	0,575	59 (33,5)	57 (32,4)	60 (34,1)	0,604
Não	391 (33,8)	363 (31,3)	404 (34,9)		273 (23,6)	399 (34,5)	486 (42,0)		417 (36,0)	352 (30,4)	389 (33,6)	
Suplemento de multivitamínico n (%)												
Sim	33 (34,7)	35 (36,8)	27 (28,4)	0,039 ¹	30 (31,6)	37 (38,9)	28 (29,5)	0,164	22 (23,2)	36 (37,9)	37 (38,9)	0,394
Não	11 (37,9)	4 (13,8)	14 (48,3)		4 (13,8)	15 (51,7)	10 (34,5)		8 (27,6)	7 (24,1)	14 (48,3)	

Idade dos progenitores média em anos (DP)												
Mãe	38,9 (± 0,216)	38,6 (± 0,218)	38,1 (± 0,220)	0,296	38,7 (± 0,214)	38,7 (± 0,224)	38,2 (± 0,217)	0,662	40,0 (± 0,218)	38,6 (± 0,223)	38,1 (± 0,214)	0,627
Pai	41,5 (± 0,230)	41,5 (± 0,244)	40,7 (± 0,239)	0,018²	41,4 (± 0,231)	41,4 (± 0,243)	40,8 (± 0,240)	0,115	41,4 (± 0,241)	41,4 (± 0,242)	40,8 (± 0,231)	0,354
Estado atual da casa n (%)												
C/ muitos problemas	5 (23,8)	5 (23,8)	11 (52,4)	0,048¹	4 (19,0)	5 (23,8)	12 (57,1)	0,192	9 (42,9)	4 (19,0)	8 (38,1)	0,697
C/ alguns problemas	39 (29,1)	38 (28,4)	57 (42,5)		41 (30,6)	49 (36,6)	44 (32,8)		47 (35,1)	44 (32,8)	43 (32,1)	
S/ problemas maiores	603 (33,8)	606 (34,0)	574 (32,2)		596 (33,4)	594 (33,3)	593 (33,3)		590 (33,1)	593 (33,3)	600 (33,7)	
Classes do IMC [68] n (%)												
Magreza severa e magreza (percentil < 5)	24 (36,9)	16 (24,6)	25 (38,5)	0,054	19 (29,2)	23 (35,4)	23 (35,4)	0,024¹	24 (36,9)	21 (32,3)	20 (30,8)	0,287
Peso Normal (percentil > 5 e > 85)	325 (31,1)	360 (34,4)	361 (34,5)		329 (31,5)	347 (33,2)	370 (35,4)		348 (33,3)	332 (31,7)	366 (35,0)	
Excesso de peso (percentil > 85 e < 95)	176 (37,9)	136 (29,3)	152 (32,8)		158 (34,1)	142 (30,6)	164 (35,3)		145 (31,3)	159 (34,3)	160 (34,5)	

Obesidade e obesidade severa (percentil > 95)	135 (33,3)	148 (36,5)	122 (30,1)		151 (37,3)	149 (36,8)	105 (25,9)		146 (36,0)	144 (35,6)	115 (28,4)	
---	---------------	---------------	---------------	--	-----------------------------	---------------	---------------	--	---------------	---------------	---------------	--

¹Teste Qui-Quadrado. ²Teste Kruskal-Wallis

Tabela 23. Avaliação da adesão aos padrões pelos estilos de vida e alimentação das crianças (valores mais elevados a negrito).

	Adesão ao padrão 1				Adesão ao padrão 2				Adesão ao padrão 3			
	Baixa	Média	Alta	<i>p</i>	Baixa	Média	Alta	<i>P</i>	Baixa	Média	Alta	<i>p</i>
Frequência de refeição na escola n (%)												
<1x por semana	90 (36,6)	78 (31,7)	78 (31,7)	0,497	84 (34,1)	73 (29,7)	89 (36,2)	0,400	83 (33,7)	78 (31,7)	85 (34,6)	0,895
≥1x por semana	563 (32,8)	575 (33,5)	579 (33,7)		575 (33,5)	579 (33,7)	563 (32,8)		574 (33,4)	569 (33,1)	574 (33,4)	
Frequência de consumo de peixes n (%)												
≤ 1x por semana	128 (31,0)	148 (35,8)	137 (33,2)	0,365	139 (33,7)	133 (32,2)	141 (34,1)	0,900	163 (39,5)	139 (33,7)	111 (26,9)	0,001 ¹
>1x por semana	522 (34,1)	498 (32,5)	512 (33,4)		514 (33,6)	510 (33,3)	508 (33,2)		484 (31,6)	503 (32,8)	545 (35,6)	
Frequência de consumo de marisco n (%)												
≤ 1x por semana	635 (33,5)	631 (33,3)	631 (33,3)	0,436	635 (33,5)	628 (33,1)	634 (33,4)	0,153	634 (33,4)	629 (33,2)	634 (33,4)	0,126
>1x por semana	8 (23,5)	14 (41,2)	12 (35,3)		14 (41,2)	14 (41,2)	6 (17,6)		17 (50,0)	8 (23,5)	9 (26,5)	
Frequência de consumo de papas de bebés n (%)												
≤ 1x por semana	563 (33,0)	570 (33,4)	575 (33,7)	0,875	590 (34,5)	574 (33,6)	544 (31,9)	<0,001 ¹	588 (34,4)	564 (33,0)	556 (32,6)	0,050
>1x por semana	74 (34,6)	71 (33,2)	69 (32,2)		48 (22,4)	70 (32,7)	96 (44,9)		59 (27,6)	69 (32,2)	86 (450,2)	
Frequência de consumo de leite n (%)												
<1 copo/dia	51 (35,9)	49 (34,5)	42 (29,6)	0,222	45 (31,7)	60 (42,3)	37 (26,1)	0,146	74 (52,1)	40 (28,2)	28 (19,7)	<0,001 ¹
= 1 copo/dia	85 (35,1)	66 (27,3)	91 (37,6)		76 (31,4)	75 (31,0)	91 (37,6)		85 (35,1)	79 (32,6)	78 (32,2)	
≥ 2 copos/dia	84 (36,4)	80 (34,6)	67 (29,0)		71 (30,7)	82 (35,5)	78 (33,8)		52 (22,5)	81 (35,1)	98 (42,4)	
Frequência de consumo de iogurtes n (%)												

<1 iogurte/dia	108 (36,7)	90 (30,6)	96 (32,7)	0,916	96 (32,7)	111 (37,8)	87 (29,6)	0,220	116 (39,5)	100 (34,0)	78 (26,5)	0,009 ¹
= 1 iogurte/dia	80 (36,2)	70 (31,7)	71 (32,1)		71 (32,1)	72 (32,6)	78 (37,9)		70 (31,7)	67 (30,3)	84 (38,0)	
≥ 2 iogurte/dia	32 (32,0)	35 (35,0)	33 (33,0)		25 (25,0)	34 (34,0)	41 (41,0)		25 (25,0)	33 (33,0)	84 (42,0)	
Frequência de consumo de ovos n (%)												
<1 /semana	65 (35,9)	55 (30,4)	61 (33,7)	0,881	57 (31,5)	65 (35,9)	59 (32,6)	0,953	67 (37,0)	62 (34,3)	52 (28,7)	0,315
≥1/ semana	155 (35,7)	140 (32,3)	139 (32,0)		135 (31,1)	152 (35,0)	147 (33,9)		144 (33,2)	138 (31,8)	152 (35,0)	

¹Teste Qui-quadrado

DISCUSSÃO

Este estudo permitiu avaliar os níveis e determinar os VR95 de elementos químicos em crianças portuguesas da região Norte do país, assim como compreender os seus determinantes e de que forma os elementos estariam relacionados entre si. A crescente associação entre a exposição a contaminantes e a saúde da população, torna este estudo importante e essencial para futuros trabalhos que pretendam avaliar os níveis destes elementos e sua interação na população portuguesa, assim como permite futura comparação dos VR95 com outras regiões ou em outro ponto no tempo. Com a análise deste estudo percebeu-se que alguns dos VR95 determinados, nomeadamente os de elementos potencialmente tóxicos, eram superiores aos valores dos outros países e que a região é um forte determinante de exposição, assim como as idades, em que os mais novos apresentam valores mais elevados, enquanto os resultados obtidos no sexo foram mais equilibrados.

Dentro dos elementos podemos ter três grupos, os essenciais, provavelmente essenciais e potencialmente tóxicos. O primeiro grupo caracteriza-se por conter elementos necessários ao organismo, participando em processos fisiológicos, catalíticos e estruturais de moléculas maiores, em que as quantidades variam consoante as necessidades diárias das faixas etárias, sendo o caso do cobre, selénio, molibdénio, iodo [15]. Já nos elementos possivelmente essenciais encontramos o manganês e o níquel cuja evidência é escassa no que respeita ao risco-benefício da sua ingestão e as suas funções fisiológicas pouco conhecidas. Por último, os elementos potencialmente tóxicos apresentam consequências nefastas para a saúde humana aquando de uma exposição a concentrações excessivas, estando incluídos o arsénio, chumbo e cádmio [15,18].

Assim, o presente estudo teve como objetivo determinar os níveis e VR95 de elementos essenciais, provavelmente essenciais e potencialmente tóxicos numa amostra de crianças em idade escolar representativa da população da região Norte de Portugal, sendo o primeiro estudo nacional onde foram estabelecidos valores de referência. Foi também objetivo de estudo analisar a possível interação de elementos presentes no organismo das crianças e entender o impacto destes na saúde desta faixa etária. Mais ainda, foi realizada a comparação destes VR95 com VR95 internacionais, de modo a compreender e enquadrar as crianças portuguesas, particularmente da região Norte, no cenário internacional de adequação e exposição. É necessário salientar que estes VR95 não são um indicador direto dos efeitos na saúde da população, mas sim uma forma de entender os níveis basais presentes nas crianças e o possível impacto que esses elementos poderão ter.

Através da comparação dos dados, observou-se que alguns elementos nomeadamente o arsénio, cobre, níquel, e o tálio determinados nas crianças portuguesas apresentavam níveis superiores aos de outros países, como Alemanha, Bélgica, Coreia, Kinshasa, Canadá, o que só por si poderá alertar para um possível efeito a saúde. O valor determinado de cádmio apresenta valor superior ao estudo da Alemanha. Não existindo muitos estudos de VR95 das crianças em idade escolar, torna-se difícil a comparação com os dados obtidos da população portuguesa.

Contudo, analisando e comparando com os dados existentes de VR95 para todas as idades em crianças e adultos, observa-se que o valor determinado de arsénio nas crianças portuguesas foi de 145,80 ($\mu\text{g/L}$), enquanto nos outros países variou entre 15,0 $\mu\text{g/L}$ e 130,3 $\mu\text{g/L}$, sendo mais baixo na Alemanha (idades entre os 3 e 14 anos) e mais alto no Kinshasa (idade compreendida entre 6 e 14 anos). O cádmio nas crianças portuguesas da região do Norte foi de 0,66 $\mu\text{g/L}$, sendo mais elevado comparativamente à Alemanha: GerES IV (3 – 14 anos) e aos EUA (6 – 11 anos) (0,20 $\mu\text{g/L}$ e 0,17 $\mu\text{g/L}$, respetivamente), porém comparado com a Bélgica (maiores de 18 anos), Coreia (20 anos), Espanha (indivíduos com idades entre 18 e 65 anos) e Reino Unido (maiores de 18 anos), Portugal apresenta valores mais baixos deste elemento. Quando determinado o valor de níquel presente nas crianças portuguesas (17,79 $\mu\text{g/L}$) verifica-se que é 3 vezes superior aos restantes países, Alemanha GerES IV (idade entre 3 e 14 anos), Alemanha (estudo feito em indivíduos adultos) e Bélgica (maiores de 18 anos) (4,50 $\mu\text{g/L}$; 3,00 $\mu\text{g/L}$ e 4,73 $\mu\text{g/L}$, respetivamente). Por fim, o tálio apresenta valores inferiores nos mesmos países que o níquel, com variação entre os 0,50 $\mu\text{g/L}$ e os 0,60 $\mu\text{g/L}$, comparativamente às crianças portuguesas (0,93 $\mu\text{g/L}$).

Uma das razões para os países apresentarem valores mais baixos em relação aos VR95 de Portugal, particularmente em relação aos elementos potencialmente tóxicos, pode dever-se ao facto de apresentarem medidas políticas que permitem diminuir a exposição da população, prevenindo o aparecimento e desenvolvimento de doenças. É o caso de França que desde de 1995 tem criado medidas para diminuir a exposição de chumbo na população [61,71]. Para além disso, o facto da comparação entre Portugal e outros países por vezes ter de ser feita com a população geral, devido à falta de dados em crianças, poderá ter influência. Contudo, poderá ser, desde já um alerta da necessidade de serem criadas medidas e políticas de forma a evitar o aumento dos níveis destes elementos, minimizando o possível impacto na saúde da população.

Foram de igual modo analisados e avaliados possíveis determinantes de exposição nomeadamente a região (Grande Porto, Tâmega e Entre Douro e Vouga), sexo (feminino ou masculino) e idades (5-6 anos; 7-8 anos; 9 – 10 anos; 11 – 12 anos). A região do Grande Porto e Entre Douro e Vouga apresentava os níveis mais elevados de elementos químicos, nomeadamente de elementos potencialmente tóxicos, comparativamente às outras regiões. Isto poderá dever-se ao facto da região do Grande Porto ser um local urbanizado, ser uma zona mais industrial, com maior movimento rodoviário e consequentemente levar à maior emissão de poluentes [72,73,74].

Em relação ao sexo das crianças, existem diferenças no que respeita ao arsénio total, cádmio, estanho, molibdénio e iodo, verificando-se nas crianças do sexo feminino níveis superiores de arsénio e estanho, e nas crianças do sexo masculino níveis superiores de cádmio, molibdénio e iodo. Quando ajustado à creatinina observou-se uma perda de significância no arsénio. Estes resultados são diferentes dos encontrados na literatura. Um estudo conduzido em Montevideo, no Uruguai, em crianças em idade pré-escolar verificou

concentrações de arsénio mais elevadas no sexo masculino [44]. Este estudo [75] sugere que a concentração de arsénio é maior nas pessoas que apresentam níveis de ferro mais baixos, sendo assim importante no futuro analisar e esclarecer esta relação [75]. Além disso, a alimentação poderá ter um impacto na quantidade de arsénio presente nos indivíduos, como é o caso do peixe que apresenta valor elevado de arsénio na sua composição. Esta poderá ser também uma das causas de este elemento estar com níveis elevados nas crianças portuguesas, havendo uma relação alta entre o consumo de peixe, mais de 1x por semana, com o padrão 3. Outro fator determinante poderá ser a exposição ao tabaco, que leva ao aumento da toxicidade de cádmio [65,76,77]. Este poderá ser um dos possíveis motivos para o elevado VR95 determinado nas crianças portuguesas estudadas, contudo, não há dados de exposição no estudo que possam validar esta relação.

Quanto à análise por idades, observou-se, no grupo etário dos 11 aos 12 anos, níveis mais elevados de antimónio, arsénio, cobalto, cobre, níquel, tálio e iodo. Porém, quando é feito o ajustado à creatinina, verifica-se que todos os elementos passam a ter significado estatístico e que grupo etário dos 5 aos 6 anos apresentam níveis mais elevados dos elementos químicos estudados. Isto pode dever-se ao facto das crianças mais novas colocarem facilmente na boca as mãos provavelmente contaminadas, mas também devido à alimentação ou brinquedos contaminados [29,54,55,56]. No caso do chumbo e cádmio, a absorção é de uma forma geral mais elevada nas crianças, podendo dever-se à imaturidade do trânsito intestinal e da barreira hematoencefálica não estar completamente desenvolvida [75]. Há medida que as crianças crescem, as concentrações de arsénio, cádmio, cobalto, cobre, chumbo, molibdénio, níquel e selénio vão diminuindo, contudo, os mecanismos permanecem por esclarecer, parecendo estar relacionado não só com alterações comportamentais, mas também com a evolução fisiológica da criança [40,55,56].

De forma a perceber quais características inerentes às crianças, qual o meio envolvente e que tipo de alimentação apresentava impacto nos níveis dos elementos e sua interação, foi realizada uma análise PCA e definidos 3 padrões. O padrão é caracterizado por uma correlação existente entre os elementos, isto é, verifica-se uma interação entre os elementos químicos que consequentemente poderá ter impacto positivo/negativo na saúde da população. No padrão 1, o que explica a maior % da variância nos dados (21,5 %), é possível encontrar concomitantemente níveis mais elevados de manganês, cobre, níquel, alumínio, cobalto e chumbo. O padrão 2, que explica 13,0 % da variância, é caracterizado por níveis mais elevados de cádmio e molibdénio, fazendo parte do grupo de elementos potencialmente tóxico e essencial, respetivamente. Por fim, o padrão 3 (10,9 % da variância) apresenta níveis mais elevados de selénio e iodo, do grupo dos elementos essenciais, e tálio e arsénio, do grupo dos elementos potencialmente tóxicos. O facto de os padrões apresentarem uma complexidade e mistura dos 3 grupos, leva a crer que existem potenciais fontes e comportamentos responsáveis similares e uma interação entre os elementos que poderão trazer benefícios ou prejuízos para a saúde da população estudada. Dentro destes 3 padrões, o padrão 1 apresentar maior risco para os indivíduos, dependendo sempre das concentrações de cada elemento.

No padrão 1, podemos encontrar interações entre dois elementos, o cobre e o manganês, essencial e potencialmente essencial respectivamente, sendo os dois importantes para funções enzimáticas e funções no metabolismo lipídico e dos hidratos de carbonos. A evidência sugere que quando o cobre se encontra em baixas concentrações na circulação sanguínea poderá influenciar a absorção do ferro e consequentemente inibir a biodisponibilidade do manganês [12]. Baixa concentração de cobre, <70 µg/L, poderá levar ao surgimento da síndrome de Menker e a problemas de crescimento e anomalias no sistema reprodutivo [15]. No sexo masculino a concentração de manganês é menor do que no sexo feminino, por este depender do ferro [80]. Mais ainda, indivíduos que apresentem um padrão caracterizado por baixa concentração de ferro, zinco e cálcio e que apresentem uma alimentação pobre em fitatos poderão apresentar uma maior absorção de chumbo [18,30,65]. Por sua vez, a baixa concentração de ferro plasmática, pode levar a um aumento da concentração de níquel plasmático, que por sua vez poderá levar a alterações nos sistemas reprodutor, gastrointestinal, neurológico, pulmonar e dermatite de contato [12,15,81]. Quando há toxicidade do zinco, a concentração de cobalto diminui e consequentemente ocorre déficit de vitamina B12, atrofia e degeneração de neurónios e alteração nos hepatócitos. O alumínio apresenta uma interação com o ferro e cálcio, em que o seu excesso leva à inibição destes dois minerais. A sua toxicidade é rara, mas quando acontece leva ao aparecimento de fibrose pulmonar [12].

No padrão 2 verifica-se concomitantemente pontos mais elevados de cádmio e molibdénio. É sabido que o cádmio poderá interferir no metabolismo do molibdénio, que é essencial para a atividade de várias enzimas, em que concentrações altas de cádmio irão levar a níveis baixos de molibdénio e possíveis danos neurológicos, taquicardias, taquipneia e ainda coma [30]. Outra interação ocorre por baixas concentrações de cálcio na dieta que pode estar associada a uma maior absorção de cádmio [18]. Podem existir outras interações entre elementos essenciais que apesar de não estarem integrados neste padrão devem ser consideradas. Nomeadamente, a evidência sugere que a toxicidade por molibdénio, poderá estar associado a baixas concentrações de cobre, um mineral fundamental para o metabolismo proteico [15].

Por fim, no padrão 3, há uma maior interação entre o arsénio, iodo, selénio e tálio. O iodo e o selénio são dois elementos essenciais para o bom funcionamento das hormonas da tiroide e o selénio pode promover ainda a diminuição da toxicidade de elementos tóxicos [22,75]. A evidência sugere que a exposição e aumento dos níveis de arsénio poderá promover a interação deste com o selénio e consequentemente estar relacionado com alterações na função tiroideia, visto que este elemento é potencialmente tóxico [12]. O tálio pode interagir com o potássio, o qual em excesso poderá perturbar a função mitocondrial, o que poderá levar ao aumento do stresse oxidativo intracelular e à apoptose [12].

Ao analisar o padrão 1, verificaram-se diferenças em vários determinantes como a região, escolaridade, toma do suplemento multivitamínico, estado atual da casa e estado nutricional. No que respeita à região

observou-se que as crianças das regiões do Grande Porto e Entre Douro e Vouga apresentaram uma alta adesão a este padrão. Esta correlação pode dever-se ao facto de estas serem áreas urbanizadas, nas quais a concentração e a produção de elementos tóxicos pode ser mais elevada [82,83,84], comparativamente à região do Tâmega, sendo locais com mais fabricas, com mais poluição atmosférica pela maior circulação rodoviária, entre outros [85,86]. Relativamente à escolaridade, as crianças no nível de ensino do 1º- 4º ano apresentaram uma adesão maior ao padrão 1 o que pode dever-se às características fisiológicas, no sentido que os órgãos ainda não estão totalmente amadurecidos, maior taxa respiratória e consequentemente maior exposição, verificando-se o mesmo no estudo feito por Rodriguez e colaboradores [9], referindo que as crianças são um subgrupo populacional mais vulneráveis aos contaminantes químicos ambientais por apresentarem comportamentos diferentes dos adultos em relação à eliminação e acumulo dos elementos. Relativamente à toma de suplemento multivitamínico, verifica-se que as crianças que não fazem suplementação têm maior adesão ao padrão. Porém, não existem indicadores que expliquem este resultado.

O estado atual da casa onde residiam as crianças parece também ter uma relação negativa a este padrão, ou seja, quanto pior o estado da casa maior a adesão, contudo a sua avaliação torna-se subjetiva por não conter informação sobre quais os problemas da casa a que se referem. Segundo Reis e colaboradores [80], uma das vias de exposição ao manganês, deve-se ao facto das pessoas trazerem do exterior, através dos sapatos ou nos pés que acaba por acumular no interior da casa. Além disso, moradias degradadas, com construções antigas poderão também ser um fator que interfira neste parâmetro.

Em relação ao determinante de exposição idade dos pais, verificou-se que a idade da mãe não apresenta diferenças significativas, enquanto a idade do pai apresenta relação com o padrão 1. Contudo, não existe nenhuma explicação na literatura que justifique este acontecimento. Por fim, quando analisadas as classes do IMC das crianças de acordo com o padrão, apesar de existir uma tendência para a baixa adesão estar associada com excesso de peso e obesidade comparativamente às crianças normoponderais, não se observaram diferenças significativas.

Comparando os VR95 determinados com os valores de outros países, verificou-se que todos os elementos no padrão 1 encontram-se superiores, com o níquel e manganês 4 vezes superiores, mas com a exceção do chumbo que é semelhante e do alumínio em que não existem dados. Assim, este padrão poderá ser um indicador a ter em conta no acompanhamento destas crianças, e um alerta para o possível surgimento de doenças.

Relativamente ao padrão 2 verificaram-se diferenças de acordo com a região, sexo, escolaridade, idade, IMC e frequência de consumo de papas das crianças. Em relação ao nível de adesão ao padrão 2 de acordo com a região e escolaridade das crianças, verificou-se o mesmo que no padrão 1. Relativamente às classes do IMC, a baixa adesão estava associada com obesidade, no entanto, este é um parâmetro com limitações, uma vez que as reais consequências/impacto da exposição poderá apenas ser verificado quando as crianças forem

novamente avaliadas em adultas. Segundo o estudo de NHANES, um possível elemento que poderia estar relacionado com a obesidade seria o cádmio [38,46], contudo, neste estudo transversal a associação é negativa, não havendo ainda dados suficientes.

As crianças que consumiam papas mais de 1x por semana apresentavam uma adesão elevada a este padrão. Isto pode dever-se à contaminação das farinhas lácteas desenvolvidas para bebés, já descrita na literatura, sendo que das farinhas analisadas, lácteas e não lácteas apresentavam contaminação de níquel aproximadamente de 21,88 µg/Kg e 18,51 µg/Kg, respetivamente, ultrapassando o valor de dose tolerável por dia, 2,80 µg/Kg por peso corporal/dia [87]. Dado que este elemento apresenta impacto negativo na saúde da população [81], leva à necessidade de maior fiscalização dos produtos destinados a crianças, mesmo que este esteja em concentrações abaixo dos limites estabelecidos na lei, de modo a evitar o aparecimento e desenvolvimento de doenças. Neste padrão os níveis de cádmio estão 3 vezes superiores nas crianças portuguesas em comparação com os VR95 dos outros países, enquanto o molibdénio se encontra com concentrações inferiores, sendo assim também um indicador preocupante para a saúde desta população.

Por fim, no padrão 3 observaram-se diferenças na adesão de acordo com a região, escolaridade, idade, consumo de peixe, frequência do consumo de leite e frequência do consumo de iogurte das crianças analisadas. No que respeita à região verificou-se uma baixa adesão a este padrão das crianças do Grande Porto, uma vez que o Tâmega é uma área mais rural e que a exposição a poluentes e a contaminação é mais baixa [83,85]. Relativamente à escolaridade apresenta a mesma adesão ao padrão em comparação aos outros. Em relação ao consumo de iogurtes e leite, as crianças que apresentavam uma frequência de consumo de mais de 2 iogurtes por dia e mais de 2 copos de leite por dia apresentavam maior adesão a este padrão. Estudos referem que quanto maior a ingestão de produtos lácteos maior os níveis urinários de cádmio, níquel e selénio [55,56]. Para além disso, o estudo de logeneration demonstrou a relação e a importância da ingestão de produtos lácteos para o aumento da ingestão de iodo e consequentemente adequação dos níveis deste mineral [16]. Como referido anteriormente, o consumo de peixe mais de 1x por semana apresenta alta adesão ao padrão 3, em que neste alimento as concentrações de arsénio são, normalmente, mais elevadas e este elemento tóxico está relacionado com o elemento essencial, selénio.

Neste padrão, os níveis dos elementos potencialmente tóxicos (arsénio e tálio) encontram-se elevados na região Norte de Portugal, concretamente Entre Douro e Vouga comparativamente aos outros países. O facto de principalmente o arsénio ser mais elevado, 10 vezes superior, aliado a níveis mais reduzidos de selénio, um elemento essencial, poderá ser um forte indicador de que esta população poderá vir a desenvolver doenças associadas ao excesso e défice destes elementos. Porém, o facto de neste padrão existirem dois grupos de elementos, tóxicos e essenciais, em que aumentam ao mesmo tempo e no mesmo sentido, poderá indicar que existe um potencial equilíbrio entre estes dois grupos.

Com a análise destes padrões e sabendo as interações que ocorrem entre os elementos em cada padrão, é possível perceber a importância de uma boa alimentação desde o início de vida. Níveis adequados de elementos essenciais e minerais poderão contrabalançar os efeitos negativos para a saúde de elementos tóxicos e de certos elementos que apesar de serem considerados essenciais podem interferir no equilíbrio do organismo quando em déficit ou excesso [18], por exemplo zinco e cobalto.

Uma das principais limitações do estudo foi a falta da análise de outros elementos que poderiam ajudar a interpretação e justificar ou completar informação acerca das interações entre elementos. Um dos exemplos é a interação do cádmio com o ferro e cobre, uma vez que quando o elemento tóxico está em excesso há menor concentração de cobre que consequentemente leva a défices de ferro e maior possibilidade de toxicidade por molibdénio [55,56,58]. Contudo torna-se difícil de comprovar na totalidade estas relações neste estudo, uma vez que não estes minerais não foram analisados neste estudo. Outra limitação foi a determinação apenas do arsénio total, ainda que a sua medição na urina seja geralmente aceite como um indicador confiável de exposição recente a este elemento. É um biomarcador menos útil da exposição ao arsénio inorgânico, a não ser que a ingestão de alimentos de origem marinha possa ser excluída [48]. Mais características da criança poderiam ser analisadas, nomeadamente quais as práticas de atividade física, outdoor ou indoor [44,48], ingestão de outros grupos alimentares, fruta, hortícolas, cereais e derivados, tubérculos, entre outros e se a ingestão de água era engarrafada ou da canalização [48,65,78]. Também não foi possível quantificar a ingestão dos elementos de forma a comparar com os VR95 determinados e perceber se a população em estudo estaria com valores de exposição muito elevados ou não, uma vez que a passagem dos níveis de exceção para de ingestão é difícil. Para tal, seria necessário recolher vários diários alimentares, usando o inquérito de frequência alimentar de 24h durante 3 a 7 dias, de modo a quantificar a ingestão diária de cada elemento [88], e através da análise aos vários componentes biológicos (sangue, urina).

CONCLUSÃO

A Biomonitorização Humana, permite avaliar os níveis dos elementos químicos na população, nomeadamente dos mais tóxicos, e permite entender o seu impacto na saúde, em que a análise e determinação dos valores de referência pode ser feita através da análise do sangue, urina, cabelo e gordura corporal [65]. As crianças são um dos grupos populacionais mais vulneráveis à contaminação dos elementos e por isso a necessidade de avaliar e analisar a sua exposição e níveis de modo a intervir e mitigar a ocorrência de doenças, uma vez que a maturidade fisiológica nesta fase ainda não está completa. Dentro das várias análises da concentração de elementos, a urina é uma das matrizes biológicas mais fáceis de utilizar por não ser evasiva [9,10,11,36].

Dada a pouca informação existente relativamente aos VR95 da população portuguesa e especialmente das crianças, este estudo torna-se importante de forma a avaliar a presença de prováveis potenciais contaminantes nesta população e possíveis consequências na saúde. Perante os resultados determinados dos VR95 dos diferentes elementos presentes nas crianças portuguesas, torna-se fundamental analisar e avaliar os impactos de alguns elementos, especialmente os EPT, e as interações que poderão ocorrer entre eles, uma vez que alguns elementos encontram com os níveis acima dos valores de outros países.

Este estudo é importante não só pela caracterização pela primeira vez dos níveis de elementos em crianças portuguesas e respetiva comparação com níveis internacionais, como também pela elaboração de padrões, que em parte, espelham a complexidade e possível interligação e relação entre elementos, que são importantes no contexto nutricional da população, mas também na exposição de misturas de elementos tóxicos e a sua relação com o estado nutricional de cada grupo etário. Com isto, a determinação e análise destes padrões irá permitir explorar futuramente a mesma população e perceber alguns possíveis efeitos a longo prazo na saúde destas crianças. Poderá permitir verificar se ocorreram mudanças e quais e ainda a possibilitar o desenvolvimento de ferramentas que permitem atuar de forma preventiva.

As medidas que poderão ser equacionadas de modo a diminuir a exposição aos elementos tóxicos poderão passar pela diminuição da construção de fábricas junto a habitações e junto a cultivos, maior controlo na qualidade da água e de produtos alimentares, em particular destinadas a crianças. Poderá passar também por definir novos limites estabelecidos por lei, assim como ajuda por parte do governo no melhoramento das moradias degradadas para famílias com baixo poder socioeconómico. Para além disto, a promoção de sessões de sensibilização junto das crianças, encarregados de educação e pais sobre a importância de uma alimentação saudável e equilibrada, poderão contribuir para evitar o aparecimento de doenças e equilibrar as concentrações de elementos essenciais e evitar a exposição a elementos tóxicos.

Esta é ainda uma das áreas menos exploradas na investigação, e mais estudos são necessários de modo a perceber e compreender os impactos de outros determinantes e correlações que poderão existir entre os vários elementos na saúde da população, dado que esta faixa etária é especialmente vulnerável. Este esforço irá permitir criar medidas políticas alimentares e ambientes de modo a garantir a prevenção do surgimento de doenças crónicas e melhorar a saúde da população.

REFERÊNCIAS

- [1] A. Ferro *et al.*, “POPs’ effect on cardiometabolic and inflammatory profile in a sample of women with obesity and hypertension,” *Arch. Environ. Occup. Heal.*, vol. 74, no. 6, pp. 310–321, 2019, doi: 10.1080/19338244.2018.1535480.
- [2] D. Pestana *et al.*, “Persistent organic pollutant levels in human visceral and subcutaneous adipose tissue in obese individuals-Depot differences and dysmetabolism implications,” *Environ. Res.*, vol. 133, pp. 170–177, 2014, doi: 10.1016/j.envres.2014.05.026.
- [3] D. Teixeira, D. Pestana, C. Calhau, and P. Graça, “Linhas de orientação sobre contaminantes de alimentos,” *Programa Nac. para a Promoção da Aliment. Saudável*, pp. 1–15, 2015.
- [4] C. Lopes *et al.*, *IAN-AF: Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física - Relatório de resultados de 2017*. 2015.
- [5] B. M. Zalewski *et al.*, “Nutrition of infants and young children (one to three years) and its effect on later health: A systematic review of current recommendations (EarlyNutrition project),” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 57, no. 3, pp. 489–500, 2017, doi: 10.1080/10408398.2014.888701.
- [6] D. Grusfeld and P. Socha, “Early nutrition and health: Short-and long-term outcomes,” *World Rev. Nutr. Diet.*, vol. 108, pp. 32–39, 2013, doi: 10.1159/000351482.
- [7] G. G. Ying, *Endocrine Disrupting Chemicals. What? Where?* 2012.
- [8] C. Rêgo *et al.*, *Alimentação saudável dos 0 aos 6 anos*, no. 1. 2019.
- [9] M. Rodríguez-Barranco *et al.*, “Association of arsenic, cadmium and manganese exposure with neurodevelopment and behavioural disorders in children: A systematic review and meta-analysis,” *Sci. Total Environ.*, vol. 454–455, pp. 562–577, 2013, doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.03.047.
- [10] F. Ruggieri, C. Majorani, F. Domanico, and A. Alimonti, “Mercury in children: Current state on exposure through human biomonitoring studies,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 14, no. 5, 2017, doi: 10.3390/ijerph14050519.
- [11] M. L. Astolfi *et al.*, “Urinary mercury levels and predictors of exposure among a group of Italian children,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 17, no. 24, pp. 1–13, 2020, doi: 10.3390/ijerph17249225.
- [12] C. W. Goyer RA, *The basic Science of poisons*. 2001.
- [13] J. L. Bresson *et al.*, “Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper,” *EFSA J.*, vol. 13, no. 10, pp. 1–51, 2015, doi: 10.2903/j.efsa.2015.4253.

- [14] Z. W. Myint, T. H. Oo, K. Z. Thein, A. M. Tun, and H. Saeed, "Copper deficiency anemia: review article," *Ann. Hematol.*, vol. 97, no. 9, pp. 1527–1534, 2018, doi: 10.1007/s00277-018-3407-5.
- [15] J. C. Monteiro, "Oligoelementos na Nutrição Humana," pp. 0–72.
- [16] B. P. João Costa Leite, Elisa Keating, Diogo Pestana, Virgínia Cruz Fernandes, Maria Luz Maia, Sónia Norberto, Edgar Pinto, André Moreira-Rosário, Diana Sintra, Bárbara Moreira, Ana Costa, Sofia Silva, Vera Costa, Inês Martins, Francisca Castro Mendes, Pedro Qu, C. M. José Carlos Caldas, António Guerra, Manuel Fontoura, Sandra Leal, Roxana Moreira, Irene Palmares Carvalho, Rui Matias Lima, and L. A. and C. C. Cristina Delerue-Matos, Agostinho Almeida, "Relatório técnico e científico 2016 1," 2016.
- [17] D. T. C. C. D. P. L. V. e P. Graça, "Iodo - Importância para a saúde e o papel da alimentação," *Programa Nac. para a Promoção da Aliment. Saudável*, 2014.
- [18] A. M. ; R. F. Marjan, "Trace Elements in Human Nutrition (II) – An Update," *Int. J. Prev. Med.*, p. 11: 2, 2020.
- [19] E. Panel and A. Nda, "Scientific Opinion on Dietary Reference Values for molybdenum," *EFSA J.*, vol. 11, no. 8, pp. 1–35, 2013, doi: 10.2903/j.efsa.2013.3333.
- [20] F. P. Phiri *et al.*, "Urine selenium concentration is a useful biomarker for assessing population level selenium status," *Environ. Int.*, vol. 134, no. July 2019, p. 105218, 2020, doi: 10.1016/j.envint.2019.105218.
- [21] E. Panel and A. Nda, "Scientific Opinion on Dietary Reference Values for selenium," *EFSA J.*, vol. 12, no. 10, pp. 1–67, 2014, doi: 10.2903/j.efsa.2014.3846.
- [22] R. Brigelius-Flohé, "Selenium in human health and disease: An overview," *Mol. Integr. Toxicol.*, vol. 14, no. 7, pp. 3–26, 2018, doi: 10.1007/978-3-319-95390-8_1.
- [23] S. Opinion, "Scientific Opinion on safety and efficacy of cobalt compounds (E3) as feed additives for all animal species: Cobaltous acetate tetrahydrate, basic cobaltous carbonate monohydrate and cobaltous sulphate heptahydrate, based on a dossier submitted by TREAC E," *EFSA J.*, vol. 10, no. 7, 2012, doi: 10.2903/j.efsa.2012.2791.
- [24] E. Panel and A. Nda, "Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese," *EFSA J.*, vol. 11, no. 11, pp. 1–44, 2013, doi: 10.2903/j.efsa.2013.3419.
- [25] T. V. Peres *et al.*, "Manganese-induced neurotoxicity: A review of its behavioral consequences and neuroprotective strategies," *BMC Pharmacol. Toxicol.*, vol. 17, no. 1,

2016, doi: 10.1186/s40360-016-0099-0.

- [26] D. R. Intakes *et al.*, *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc : a report of the Panel on Micronutrients ... [et al.]*, *Standing Committee on the Scientific Eva.* 2002.
- [27] M. A. Nouioui *et al.*, "Biomonitoring chronic lead exposure among battery manufacturing workers in Tunisia," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 26, no. 8, pp. 7980–7993, 2019, doi: 10.1007/s11356-019-04209-y.
- [28] P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, and D. J. Sutton, *Molecular, clinical and environmental toxicology Volume 3: Environmental Toxicology*, vol. 101. 2012.
- [29] W. Schmitz, "Exposure of children," *Encycl. Anc. Hist.*, no. 4, 2012, doi: 10.1002/9781444338386.wbeah22107.
- [30] J. Lopez-Alonso, M. Miranda, M. Castillo, C. Hernández, "Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain," *BioMetals*, vol. 17, pp. 389–397, doi: 10.1023/B.
- [31] Centers for Disease Control [CDC], "Laboratory Procedure Manual: Antimony, Arsenic, Barium, Beryllium, Cadmium, Cesium, Cobalt, Lead, Manganese, Molybdenum, Platinum, Strontium, Thallium, Tin, Tungsten and Uranium. Method No. 3018.3 and 3018A.2," no. Cdc, 2012.
- [32] C. Schulz, J. Angerer, U. Ewers, and M. Kolossa-Gehring, "The German Human Biomonitoring Commission," *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 210, no. 3–4, pp. 373–382, 2007, doi: 10.1016/j.ijheh.2007.01.035.
- [33] "Dietary exposure to aluminium-containing food additives," *EFSA Support. Publ.*, vol. 10, no. 4, pp. 1–17, 2017, doi: 10.2903/sp.efsa.2013.en-411.
- [34] A. Barbosa, "Avaliação Do Risco Contaminada Por Arsênio ;," 2019.
- [35] M. Anastácio, A. P. M. dos Santos, M. Aschner, and L. Mateus, "Determination of trace metals in fruit juices in the Portuguese market," *Toxicol. Reports*, vol. 5, no. January, pp. 434–439, 2018, doi: 10.1016/j.toxrep.2018.03.010.
- [36] K. Orloff, K. Mistry, and S. Metcalf, "Biomonitoring for environmental exposures to arsenic," *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part B Crit. Rev.*, vol. 12, no. 7, pp. 509–524, 2009, doi: 10.1080/10937400903358934.

- [37] C. D. Klaassen and J. B. Watkins, "Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull (Lange) 2ª ed," *Toxicologia*. p. 7, 2012, [Online]. Available: <http://books.google.com/books?id=7QITe0DcPKsC&pgis=1>.
- [38] D. Arcella, C. Cascio, and J. Á. Gómez Ruiz, "Chronic dietary exposure to inorganic arsenic," *EFSA J.*, vol. 19, no. 1, pp. 1–50, 2021, doi: 10.2903/j.efsa.2021.6380.
- [39] S. Blunden and T. Wallace, "Tin in canned food: A review and understanding of occurrence and effect," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 41, no. 12, pp. 1651–1662, 2003, doi: 10.1016/S0278-6915(03)00217-5.
- [40] M. J. Ramos-Peralonso, "European Food Safety Authority (EFSA)," *Encycl. Toxicol. Third Ed.*, no. September, pp. 554–556, 2014, doi: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00563-7.
- [41] J. Liu *et al.*, "Thallium contamination, health risk assessment and source apportionment in common vegetables," *Sci. Total Environ.*, vol. 703, no. xxxx, p. 135547, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135547.
- [42] D. Petrakis *et al.*, "Endocrine disruptors leading to obesity and related diseases," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 14, no. 10, pp. 1–18, 2017, doi: 10.3390/ijerph14101282.
- [43] S. Clemens and J. F. Ma, "Toxic Heavy Metal and Metalloid Accumulation in Crop Plants and Foods," *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 67, no. January, pp. 489–512, 2016, doi: 10.1146/annurev-arplant-043015-112301.
- [44] K. Kordas, E. I. Queirolo, A. S. Ettinger, R. O. Wright, and R. J. Stoltzfus, "Prevalence and predictors of exposure to multiple metals in preschool children from Montevideo, Uruguay," *Sci. Total Environ.*, vol. 408, no. 20, pp. 4488–4494, 2010, doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.06.041.
- [45] W. Shao, Q. Liu, X. He, H. Liu, A. Gu, and Z. Jiang, "Association between level of urinary trace heavy metals and obesity among children aged 6–19 years: NHANES 1999–2011," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 12, pp. 11573–11581, 2017, doi: 10.1007/s11356-017-8803-1.
- [46] M. David *et al.*, "Learning from previous work and finding synergies in the domains of public and environmental health: EU-funded projects BRIDGE Health and HBM4EU," *Arch. Public Heal.*, vol. 78, no. 1, pp. 1–13, 2020, doi: 10.1186/s13690-020-00460-9.
- [47] M. Nadal, F. García, M. Schuhmacher, and J. L. Domingo, "Metals in biological tissues of the population living near a hazardous waste incinerator in Catalonia, Spain: Two decades of follow-up," *Environ. Res.*, vol. 176, no. June, p. 108578, 2019, doi:

10.1016/j.envres.2019.108578.

- [48] I. Molina-Villalba *et al.*, "Biomonitoring of arsenic, cadmium, lead, manganese and mercury in urine and hair of children living near mining and industrial areas," *Chemosphere*, vol. 124, no. 1, pp. 83–91, 2015, doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.11.016.
- [49] G. M. Cooke, "Biomonitoring of human fetal exposure to environmental chemicals in early pregnancy," *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part B Crit. Rev.*, vol. 17, no. 4, pp. 205–224, 2014, doi: 10.1080/10937404.2014.898167.
- [50] A. N. Davis *et al.*, "Exposure to environmental toxicants and young children's cognitive and social development," *Rev. Environ. Health*, vol. 34, no. 1, pp. 35–56, 2019, doi: 10.1515/reveh-2018-0045.
- [51] R. G. Lucchini *et al.*, "Neurocognitive impact of metal exposure and social stressors among schoolchildren in Taranto, Italy," *Environ. Heal. A Glob. Access Sci. Source*, vol. 18, no. 1, pp. 1–12, 2019, doi: 10.1186/s12940-019-0505-3.
- [52] W. H. Organization, "The Public Health Impact of Chemicals: Knowns and Unknowns," *World Heal. Organ.*, pp. 1–16, 2016, [Online]. Available: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/206553/WHO_FWC_PHE_EPE_16.01_eng.pdf?sequence=1.
- [53] A. A. Tinkov *et al.*, "The role of cadmium in obesity and diabetes," *Sci. Total Environ.*, vol. 601–602, pp. 741–755, 2017, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.224.
- [54] S. Fierens *et al.*, "Impact of iron and steel industry and waste incinerators on human exposure to dioxins, PCBs, and heavy metals: Results of a cross-sectional study in Belgium," *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part A Curr. Issues*, vol. 70, no. 3–4, pp. 222–226, 2007, doi: 10.1080/15287390600884628.
- [55] A. P. Sanders, B. Claus Henn, and R. O. Wright, "Perinatal and Childhood Exposure to Cadmium, Manganese, and Metal Mixtures and Effects on Cognition and Behavior: A Review of Recent Literature," *Curr. Environ. Heal. reports*, vol. 2, no. 3, pp. 284–294, 2015, doi: 10.1007/s40572-015-0058-8.
- [56] J. Angerer, U. Ewers, and M. Wilhelm, "Human biomonitoring: State of the art," *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 210, no. 3–4, pp. 201–228, 2007, doi: 10.1016/j.ijheh.2007.01.024.
- [57] M. Černá *et al.*, "Case study: Possible differences in phthalates exposure among the Czech, Hungarian, and Slovak populations identified based on the DEMOCOPHES pilot study

- results," *Environ. Res.*, vol. 141, pp. 118–124, 2015, doi: 10.1016/j.envres.2014.10.025.
- [58] S. Pan *et al.*, "Effects of lead, cadmium, arsenic, and mercury co-exposure on children's intelligence quotient in an industrialized area of southern China," *Environ. Pollut.*, vol. 235, pp. 47–54, 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2017.12.044.
- [59] J. Buekers *et al.*, "Development of policy relevant human biomonitoring indicators for chemical exposure in the European population," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 15, no. 10, 2018, doi: 10.3390/ijerph15102085.
- [60] WHO, "Human biomonitoring: facts and figures," *World Heal. Organ.*, pp. 1–88, 2015, [Online]. Available: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/276311/Human-biomonitoring-facts-figures-en.pdf.
- [61] J. Choi, T. Aarøe Mørck, A. Polcher, L. E. Knudsen, and A. Joas, "Review of the state of the art of human biomonitoring for chemical substances and its application to human exposure assessment for food safety," *EFSA Support. Publ.*, vol. 12, no. 2, 2017, doi: 10.2903/sp.efsa.2015.en-724.
- [62] H. Louro *et al.*, "Human biomonitoring in health risk assessment in Europe: Current practices and recommendations for the future," *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 222, no. 5, pp. 727–737, 2019, doi: 10.1016/j.ijheh.2019.05.009.
- [63] D. A. Sarigiannis *et al.*, "Physiology-based toxicokinetic modelling in the frame of the European Human Biomonitoring Initiative," *Environ. Res.*, vol. 172, no. November 2018, pp. 216–230, 2019, doi: 10.1016/j.envres.2019.01.045.
- [64] J. Angerer, L. L. Aylward, S. M. Hays, B. Heinzow, and M. Wilhelm, "Human biomonitoring assessment values: Approaches and data requirements," *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 214, no. 5, pp. 348–360, 2011, doi: 10.1016/j.ijheh.2011.06.002.
- [65] G. Saravanabhavan, K. Werry, M. Walker, D. Haines, M. Malowany, and C. Khoury, "Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007–2013," *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 220, no. 2, pp. 189–200, 2017, doi: 10.1016/j.ijheh.2016.10.006.
- [66] R. Kuno, M. H. Roquetti, and N. Gouveia, "Conceitos e derivação de valores de referência para biomonitorização humana de contaminantes ambientais," *Rev. Panam. Salud Publica/Pan Am. J. Public Heal.*, vol. 27, no. 1, pp. 74–79, 2010, doi: 10.1590/S1020-49892010000100011.

- [67] M. Roca, A. Sánchez, R. Pérez, O. Pardo, and V. Yusà, "Biomonitoring of 20 elements in urine of children. Levels and predictors of exposure," *Chemosphere*, vol. 144, pp. 1698–1705, 2016, doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.008.
- [68] Rito Ana; Breda João; Carmo Isabel, *Guia de Avaliação do Estado Nutricional Infantil e Juvenil / Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge*. 2011.
- [69] Center for Disease Control and Prevention, "Urine iodine and mercury by inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometry (ICP-DRC-MS), DLS Method 3002.1. Division of Laboratory Science.," pp. 1–34, 2005, [Online]. Available: http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes_07_08/UIO_E_met_urinary_iodine.pdf.
- [70] D. Report, "Statistical Analysis Plan Deliverable Report WP 10 – Data management and analysis Deadline : February 2019 Upload by Coordinator : 01 March 2019," no. 733032, 2019.
- [71] J. A. Kim *et al.*, "Heavy metal risk management: Case analysis," *Toxicol. Res.*, vol. 28, no. 3, pp. 143–149, 2012, doi: 10.5487/TR.2012.28.3.143.
- [72] M. F. Gabriel *et al.*, "Indoor environmental quality in households of families with infant twins under 1 year of age living in Porto," *Environ. Res.*, vol. 198, p. 110477, 2021, doi: 10.1016/j.envres.2020.110477.
- [73] A. Ferguson, R. Penney, and H. Solo-Gabriele, "A review of the field on children's exposure to environmental contaminants: A risk assessment approach," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 14, no. 3, pp. 1–25, 2017, doi: 10.3390/ijerph14030265.
- [74] D. T. Wigle, T. E. Arbuckle, M. Walker, M. G. Wade, S. Liu, and D. Krewski, "Environmental hazards: Evidence for effects on child health," *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part B Crit. Rev.*, vol. 10, no. 1–2, pp. 3–39, 2006, doi: 10.1080/10937400601034563.
- [75] T. Elements, N. A. Review, A. Mehri, and R. F. Marjan, "2013 Review article," vol. 2, no. October, pp. 115–128, 2013.
- [76] F. Lamkarkach *et al.*, "Human biomonitoring initiative (HBM4EU): Human biomonitoring guidance values (HBM-GVs) derived for cadmium and its compounds," *Environ. Int.*, vol. 147, no. November 2020, p. 106337, 2021, doi: 10.1016/j.envint.2020.106337.
- [77] K. Kim *et al.*, "The relationship between zinc intake and cadmium burden is influenced by smoking status," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 125, no. January, pp. 210–216, 2019, doi: 10.1016/j.fct.2019.01.004.

- [78] D. A. Pena, "Patrícia Freitas Sousa," 2019.
- [79] M. E. Moreno *et al.*, "Biomonitoring of metal in children living in a mine tailings zone in Southern Mexico: A pilot study," *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 213, no. 4, pp. 252–258, 2010, doi: 10.1016/j.ijheh.2010.03.005.
- [80] A. P. Reis *et al.*, "Investigating relationships between biomarkers of exposure and environmental copper and manganese levels in house dusts from a Portuguese industrial city," *Environ. Geochem. Health*, vol. 37, no. 4, pp. 725–744, 2015, doi: 10.1007/s10653-015-9724-x.
- [81] M. G. Ahlström, J. P. Thyssen, M. Wennervaldt, T. Menné, and J. D. Johansen, "Nickel allergy and allergic contact dermatitis: A clinical review of immunology, epidemiology, exposure, and treatment," *Contact Dermatitis*, vol. 81, no. 4, pp. 227–241, 2019, doi: 10.1111/cod.13327.
- [82] SNIAmb, "Emissões de Poluentes Atmosféricos," *Sist. Nac. Informação Ambient.*, 2017, [Online]. Available: <https://sniamb.apambiente.pt/content/emissoes-de-poluentes-atmosfericos?language=pt-pt>.
- [83] F. Ferreira, "ATMOSFÉRICAS DA REGIÃO NORTE |," 2021.
- [84] M. Comiss and D. Regional, "Inventário de Emissões Gasosas na Região Centro -," 2014.
- [85] Agência Portuguesa do Ambiente *et al.*, "Evolução da qualidade do ar em Portugal," p. 100, 2008, [Online]. Available: http://www.apambiente.pt/_zdata/DAR/Evolucao_qualidade_ar_Portugal_2001_2005.pdf.
- [86] M. D. Guerra, R. Ribeiro, and S. Rodrigues, "Relatório do Estado do Ambiente Portugal," pp. 1–85, 2019, [Online]. Available: <https://sniambgeoviewer.apambiente.pt/GeoDocs/geoportaldocs/rea/REA2019/REA2019.pdf>.
- [87] B. D. F. Simões, "Identificação e quantificação de níquel em produtos alimentares para crianças," p. 67, 2018, [Online]. Available: <http://files/1118/Identificação e quantificação de níquel em produtos.pdf>.
- [88] Departamento de Epidemiologia Medicina Preditiva e Saúde Pública, "Inquérito de Frequência Alimentar," *Fac. Med. do Porto*, [Online]. Available: <http://higiene.med.up.pt/freq.php>.